

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

**INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE ALGAS  
PARDAS DO GÊNERO *Dictyopteris* PROVENIENTES DE  
ILHAS OCEÂNICAS BRASILEIRAS**

Gabriele Andressa Zatelli

Florianópolis  
2019



Gabriele Andressa Zatelli

**INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE ALGAS  
PARDAS DO GÊNERO *Dictyopteris* PROVENIENTES DE  
ILHAS OCEÂNICAS BRASILEIRAS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutora em Farmácia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Miriam de Barcellos Falkenberg.

Coorientador: Prof. Dr. Vassilios Roussis.

Florianópolis  
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Zatelli, Gabriele Andressa

Investigação química e biológica de algas pardas do gênero Dictyopteris provenientes de ilhas oceânicas brasileiras / Gabriele Andressa Zatelli ; orientador, Miriam de Barcellos Falkenberg, coorientador, Vassilios Roussis, 2019.  
328 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Dictyopteris. 3. Ilhas oceânicas. 4. Metabólitos sulfurados. 5. Atividades biológicas. I. Falkenberg, Miriam de Barcellos. II. Roussis, Vassilios. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. IV. Título.

**“INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE  
ALGAS PARDAS DO GÊNERO Dictyopteris  
PROVENIENTES DE ILHAS OCEÂNICAS  
BRASILEIRAS”**

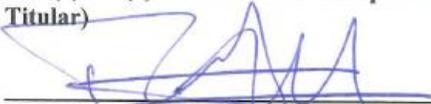
**POR**

**Gabriele Andressa Zatelli**

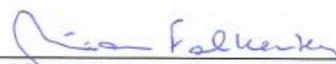
Tese julgada e aprovada em sua  
forma final pelo(a) Orientador(a) e  
membros da Banca Examinadora,  
composta pelos Professores  
Doutores:

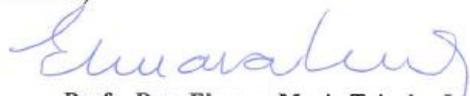
**Banca Examinadora:**

  
Prof(a). Dr(a). Lillian Sibelle Campos Bernardes (UFSC – Membro  
Titular)

  
Prof(a). Dr(a). Paulo Antunes Horta Junior (UFSC – Membro  
Titular)

  
Prof(a). Dr(a). Leticia Veras Couto Lotufo (USP – Membro Titular)

  
Prof(a). Dr(a). Miriam de Barcellos Falkenberg (UFSC –  
Orientador)

  
Prof(a). Dra. Elenara Maria Teixeira Lemos Senna  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da  
UFSC

Florianópolis, 15 de julho de 2019.



Dedico este trabalho à minha família e amigos.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho:

- A Deus, pelo seu imenso amor e graça;
- À minha família, por todo o suporte e incentivo;
- À minha orientadora, Profa. Miriam de Barcellos Falkenberg, pela confiança, amizade, ensinamentos, críticas construtivas e apoio durante toda esta jornada;
- Ao meu coorientador, Prof. Vassilious Roussis, e à Profa. Efstathia Ioannou, por toda a orientação e atenção dispensada durante a realização do doutorado sanduíche;
- Aos colegas do projeto SISBIOTA, pelas coletas das algas, identificação das espécies e discussões relacionadas aos aspectos ecológicos, especialmente aos professores Paulo Horta, Sérgio Floeter, Guilherme Longo, Carlos Eduardo Leite Ferreira, Ronaldo Francini-Filho e Letícia Costa Lotufo, e também aos seus alunos, Marina, Renato, Juan, Bianca, Lucas, Moyses, Luisa e Thais.
- Aos professores que colaboraram para a avaliação das atividades biológicas, Prof. Diego Wilke (UFC), Profa. Karin Kaumo (UFSC), Profa. Ana Carolina Rabello de Moraes (UFSC) e Profa. Michele Debiasi Alberton (UFSC), e aos seus alunos, especialmente Katharine, Carolina e Stephanie.
- Aos professores Anderson Barison e Francinete Ramos Campos (UFPR), que prontamente se dispuseram em auxiliar na obtenção de espectros de RMN e massas para algumas substâncias desta tese, bem como à Leice e Flávia, que realizaram as análises.
- Ao CEBIME (UFSC), especialmente ao servidor Mauro Henrique Dartora Dutra, pelas análises em LC-MS, discussões em relação ao tema e dedicação ao trabalho;
- À Larissa Frankenberg, Morgana Frena e Louis Sandjo, pelas análises de CG-MS e LC-MS;

- Aos professores do laboratório de Química Farmacêutica e do GEPRONAS, em especial à Profa. Lílian Sibelle Campos Bernardes, Prof. Eloir Paulo Schenkel e Profa. Maique Biavatti, pelos ensinamentos no convívio diário e durante as disciplinas, e pela aquisição e manutenção dos equipamentos dos laboratórios.

- À Ana Cláudia Philippus, pela grande amizade e parceria durante os anos de mestrado e doutorado, pelas longas conversas, apoio, incentivo, e experiências divididas;

- Aos colegas de laboratório na UFSC, pelos momentos compartilhados e troca de experiências: Fernanda, Cintia, Tauana, Maria Gabriela, Satomy, Vinícius, Carolina, Lucas, Adriana, Lara, Daniel, Rafael, Larissa F., Larissa, Layzon, Luiz, Erlon, Amanda, Maria Izabel, Narjara, Rafaela, Tamires e Vanessa.

- Aos amigos e colegas de laboratório de Atenas, pelo acolhimento e apoio durante o período de estágio, especialmente ao Mohamed, Stefanos, Katerina, Maria, Natasa, Fotini, Konstantina, Vasia, Giannis e Edna.

- À coordenação, professores e servidores do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da UFSC, por todo o suporte oferecido em minha formação;

- À CAPES e ao CNPq, pelo apoio financeiro.

*O que sabemos é uma gota,  
o que ignoramos é um oceano.*

**Isaac Newton**



## RESUMO

Produtos naturais marinhos constituem importante fonte de potenciais candidatos a novos fármacos, e as algas do gênero *Dictyopteris* se destacam por produzir metabólitos originais e com interessante bioatividade. Neste trabalho, *D. jolyana* e *D. plagiogramma* coletadas em ilhas oceânicas brasileiras foram investigadas do ponto de vista químico e biológico. Extratos foram preparados por maceração em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (2:1), comparados quimicamente por métodos espectroscópicos e alguns fracionados cromatograficamente. Os perfis químicos foram diversos e a identificação de compostos derivados de C<sub>11</sub> contendo enxofre em alguns extratos pode estar correlacionada a fatores ecológicos; a identificação de derivados de ácido ftálico pode ser indicativa de poluição ambiental. O fracionamento do extrato DJ-I (*D. jolyana*, FN, 2014) resultou na identificação de 17 substâncias: 10 compostos derivados de C<sub>11</sub> contendo enxofre (**Dj1**, **Dj5**, **Dj7**, **Dj9**, **Dj11**, **Dj13**, **Dj16-18**, **Dj26**), três tocoferóis (**Dj15**, **Dj20** e **Dj25**), fucosterol (**Dj19**), fitol (**Dj21**), e dois ftalatos (**Dj12** e **Dj14**). Todos estes compostos são novos para a espécie, e **Dj7**, **Dj9**, **Dj11**, **Dj22-23** e **Dj26** são inéditos na literatura. O estudo do extrato DP-VII (*D. plagiogramma*, AR, 2016) resultou na identificação de oito substâncias: seis derivados de C<sub>11</sub> contendo enxofre (**Dp2-6**, **Dp8**),  $\gamma$ -tocoferol (**Dp1**) e fucosterol (**Dp7**). Exceto **Dp2** and **Dp7**, os demais metabólitos são novos para a espécie. Os extratos apresentaram baixa citotoxicidade sobre a linhagem HCT-116, o que também foi observado para os compostos isolados. O extrato DJ-I demonstrou atividade contra trofozoítos de *A. castellanii* (CI<sub>50</sub> = 2,34±0,38 mg/mL), porém o composto avaliado (**Dj1**) apresentou fraca atividade. O extrato DJ-I apresentou o melhor perfil de atividade antiagregante (19,5±3,5%, ADP) e os compostos **Dj1**, **Dj5** e **Dj19** foram os mais ativos (61,5±0,5, 63,0±3,0 e 74,0±7,0% para ADP, e 76,0±3,0, 74,0±3,0 e 58,0±2,8% para epinefrina, respectivamente). A triagem virtual sugeriu a enzima acetilcolinesterase como possível alvo molecular para o composto **Dj13**, o qual foi avaliado *in vitro* e demonstrou potente atividade inibitória (CI<sub>50</sub><0,875  $\mu$ g/mL). Os resultados revelam o grande potencial dos metabólitos secundários de *Dictyopteris*, notadamente os derivados sulfurados, evidenciando a importância da continuidade dos estudos.

**Palavras-chave:** *Dictyopteris*. Ilhas oceânicas brasileiras. Metabólitos sulfurados. Antiagregante. Anticolinesterásica. Triagem virtual.



## ABSTRACT

ZATELLI, G. A. **Chemical and biological investigation of brown algae of *Dictyopteris* genus from Brazilian Oceanic Islands.** 2019. 328p. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

Marine natural products are an important source for new drug candidates, and algae of the *Dictyopteris* genus produce unique metabolites with interesting bioactivity. In this work, *D. jolyana* and *D. plagiogramma* extracts from the Brazilian oceanic islands were investigated from their chemical and biological properties. The extracts were macerated on CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (2:1), chemically compared by spectroscopic techniques and chromatographically fractionated. The chemical profiles were distinct and the identification of C<sub>11</sub>-sulfur compounds in some extracts may be correlated to ecological factors; the identification of phthalic acid derivatives may indicate environmental pollution. The study of DJ-I extract (*D. jolyana*, FN, 2014) led to the identification of 17 compounds: 10 C<sub>11</sub>-sulfur metabolites (**Dj1**, **Dj5**, **Dj7**, **Dj9**, **Dj11**, **Dj13**, **Dj16-18**, **Dj26**), three tocopherols (**Dj15**, **Dj20** and **Dj25**), fucosterol (**Dj19**), phytol (**Dj21**), and two phthalates (**Dj12** and **Dj14**). All these compounds are new to the species and **Dj7**, **Dj9**, **Dj11**, **Dj22-23** and **Dj26** are new in the literature. The study of DP-VII extract (*D. plagiogramma*, AR, 2016) led to the identification of eight compounds: six C<sub>11</sub>-sulfur metabolites (**Dp2-6**, **Dp8**),  $\gamma$ -tocopherol (**Dp1**) and fucosterol (**Dp7**). Excepting **Dp2** and **Dp7**, the other metabolites are new for the species. The extracts demonstrated weak cytotoxicity against HCT-116 cell line, which was observed also to the isolated compounds. The DJ-I extract demonstrated amebicidal potential against *A. castellanii* trophozoites (IC<sub>50</sub>=2.34±0.38 mg/mL), however the evaluated compound (**Dj1**) showed weak activity. The DJ-I extract showed greater antiplatelet activity (19.5±3.5%, ADP), while **Dj1**, **Dj5** and **Dj19** were the most potent compounds (61.5±0.5; 63.0±3.0 and 74.0±7.0% for ADP, and 76.0±3.0, 74.0±3.0 and 58.0±2.8% for epinephrine, respectively). The virtual screening suggested acetylcholinesterase as a possible molecular target for **Dj13**, which has been evaluated *in vitro* and showed potent inhibitory activity (IC<sub>50</sub><0.875  $\mu$ g/mL). The results indicate the great potential of the secondary metabolites of *Dictyopteris*, mainly the C<sub>11</sub>-sulfur metabolites, evidencing the importance of the continuity of the studies.

**Keywords:** *Dictyopteris*. Brazilian oceanic islands. Sulfur compounds. Antiplatelet. Anticholinesterase. Virtual screening.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização das ilhas oceânicas brasileiras.....	44
Figura 2. Aspecto das espécies <i>Dictyopteris plagiogramma</i> (A e B) e <i>D. jolyana</i> (C e D).....	46
Figura 3. Compostos do tipo C <sub>11</sub> relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> .	49
Figura 4. Compostos contendo enxofre relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> .....	57
Figura 5. Terpenos relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> .....	60
Figura 6. Meroditerpenos relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> .....	69
Figura 7. Compostos halogenados relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> . .....	72
Figura 8. Esteroides relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> .....	74
Figura 9. Pontos de coleta de espécimes de <i>Dictyopteris</i> nas ilhas oceânicas brasileiras.....	95
Figura 10. Cromatografia em camada delgada dos extratos de <i>D. jolyana</i> .....	105
Figura 11. Cromatografia em camada delgada dos extratos de <i>D. plagiogramma</i> .....	105
Figura 12. Perfil químico dos extratos de <i>D. jolyana</i> em UFLC-ESI-MS obtido no modo de ionização positivo, com destaque para a identificação de compostos contendo enxofre e derivados de ácido ftálico. ....	106
Figura 13. Perfil químico dos extratos de <i>D. plagiogramma</i> em UFLC-ESI-MS obtido no modo de ionização positivo, com destaque para a identificação de compostos contendo enxofre e derivados de ácido ftálico.....	107
Figura 14. Praia do Atalaia em Fernando de Noronha (A e B) e piscina do Cemitério em Atol das Rocas (C e D).....	112
Figura 15. Derivados de ácido ftálico identificados e sugeridos nos extratos de <i>Dictyopteris</i> .....	114
Figura 16. Estrutura dos compostos isolados e identificados do extrato DJ-I.....	119

Figura 17. Fluxograma do fracionamento da fração D do extrato DJ-I. .....	120
Figura 18. Fluxograma do fracionamento da fração E do extrato DJ-I. .....	121
Figura 19. Fluxograma do fracionamento das frações reunidas do extrato DJ-I. .....	122
Figura 20. Primeira estrutura parcial referente à carbonila $\alpha,\beta$ -insaturada da substância Dj1 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . .....	124
Figura 21. Segunda estrutura parcial referente à cadeia alifática da substância Dj1 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . .....	124
Figura 22. Terceira estrutura parcial referente à ligação ao enxofre da substância Dj1 com as correlações verificadas no mapa de HMBC. ....	125
Figura 23. Estrutura da substância Dj1 (bis( <i>E</i> )-(3-oxo-undec-4-enil)dissulfeto). .....	126
Figura 24. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj1. ....	128
Figura 25. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj1. ....	128
Figura 26. Espectro de RMN DEPT 135 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj1. ....	129
Figura 27. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj1. ....	129
Figura 28. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj1. .....	130
Figura 29. Mapa de correlação COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj1. .....	130
Figura 30. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj1 obtido por [ESI(+)-EMAR]. .....	131
Figura 31. Primeira estrutura parcial referente ao primeiro monômero da substância Dj5 com as correlações verificadas no mapa de HMBC. ....	132
Figura 32. Segunda estrutura parcial referente ao segundo monômero da substância Dj5 com as correlações verificadas no mapa de HMBC. ....	133
Figura 33. Terceira estrutura parcial referente ao segundo monômero da substância Dj5 com as correlações verificadas no mapa de HMBC. ....	133

Figura 34. Quarta estrutura parcial referente ao segundo monômero da substância Dj5 com as correlações verificadas no mapa de HMBC. ...	133
Figura 35. Estrutura da substância Dj5 (( <i>E</i> )-1-(5-metiltio-3-oxo-undecil)dissulfanilundec-4-en-3-ona). .....	134
Figura 36. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj5. ....	136
Figura 37. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj5. ....	136
Figura 38. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj5. ....	137
Figura 39. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj5. ....	137
Figura 40. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj5 obtido por [ESI(+)-EMAR]. .....	138
Figura 41. Estrutura parcial da substância Dj7 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H. ....	139
Figura 42. Estrutura da substância Dj7 (( <i>E</i> )-1-(metildissulfanil)undec-4-en-3-ona). .....	140
Figura 43. Proposta de fragmentação do composto Dj7 (IE-EM, 70 eV). .....	140
Figura 44. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj7. ....	142
Figura 45. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj7. ....	142
Figura 46. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj7. ....	143
Figura 47. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj7. ....	143
Figura 48. Mapa de correlação COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj7. ....	144
Figura 49. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj7 obtido por ESI(+)-EMAR. ....	144
Figura 50. Espectro de massas do composto Dj7 obtido por CG-EM (EI, 70 eV). ....	145
Figura 51. Estrutura parcial da substância Dj9 com as correlações observadas no mapa de HMBC. ....	146
Figura 52. Estrutura na substância Dj9 (bis( <i>E</i> )-(3-oxo-undec-4-enil)trissulfeto). .....	147

Figura 53. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj9. ....	148
Figura 54. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj9. ....	148
Figura 55. Espectro de RMN DEPT 135 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj9. ...	149
Figura 56. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj9.	149
Figura 57. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj9. .....	150
Figura 58. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj9 obtido por ESI(+)-EMAR. ....	150
Figura 59. Primeira estrutura parcial da substância Dj11 referente ao primeiro monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . ....	151
Figura 60. Segunda estrutura parcial da substância Dj11 referente ao segundo monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . ....	153
Figura 61. Estrutura parcial da substância Dj11 referente ao segundo monômero com as demais correlações verificadas no mapa de HMBC. .....	153
Figura 62. Proposta de fragmentação para a substância Dj11 (ESI-EM). .....	154
Figura 63. Estrutura parcial da substância Dj11 referente ao terceiro monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC e $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY.....	155
Figura 64. Estrutura da substância Dj11 ((4 <i>E</i> )-1-[(3-oxo-1-[(4 <i>E</i> )-3- oxoundec-4-en-1-il]disulfanil}undecan-5-il]disulfanil]undec-4-en-3- ona). ....	155
Figura 65. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj11. ....	157
Figura 66. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj11. ....	157
Figura 67. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj11. .....	158
Figura 68. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj11. .....	158
Figura 69. Mapa de correlação COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj11. ....	159

Figura 70. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj11 obtido por ESI(+)-EMAR.....	159
Figura 71. Estrutura da substância Dj13 (3-hexil-4,5-ditiacicloheptanona). .....	161
Figura 72. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj13. ....	163
Figura 73. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj13 .....	163
Figura 74. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj13. ....	164
Figura 75. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj13. ....	164
Figura 76. Mapa de correlação COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj13.....	165
Figura 77. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj13 obtido por [ESI(+)-EMAR]. .....	165
Figura 78. Primeira estrutura parcial da substância Dj16 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .....	167
Figura 79. Segunda estrutura parcial da substância Dj16 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .....	168
Figura 80. Terceira estrutura parcial da substância Dj16 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .....	168
Figura 81. Estrutura da substância Dj16 (2-hexil-tetrahidropirran-4-ona).....	169
Figura 82. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj16. ....	171
Figura 83. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj16. ....	171
Figura 84. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj16. ....	172
Figura 85. Mapa de correlação HMBC (600/150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj16. ....	172
Figura 86. Mapa de correlação COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj16.....	173

Figura 87. Primeira estrutura parcial da substância Dj17 referente ao primeiro monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .	174
Figura 88. Segunda estrutura parcial da substância Dj17 referente ao segundo monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .	174
Figura 89. Estrutura parcial da substância Dj17 referente ao segundo monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC.	175
Figura 90. Estrutura da substância Dj17 ( <i>E</i> )-1-(3-oxo-undecil)-dissulfanilundec-4-en-3-ona.	175
Figura 91. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj17.	177
Figura 92. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj17.	177
Figura 93. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj17.	178
Figura 94. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj17.	178
Figura 95. Mapa de correlação COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj17.	179
Figura 96. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj17 obtido por [ESI(+)-EMAR].	179
Figura 97. Estrutura parcial da substância Dj18 referente à carbonila $\alpha,\beta$ -insaturada.	180
Figura 98. Estrutura do composto Dj18 (( <i>E</i> )-1-(metiltio)undec-4-en-3-ona).	181
Figura 99. Proposta de fragmentação do composto Dj18 (IE-EM, 70 eV).	181
Figura 100. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj18.	182
Figura 101. Cromatograma da fração J1CL14-3 obtido por CG-EM.	183
Figura 102. Espectro de massas do composto Dj18 obtido por CG-EM (EI, 70 eV).	183
Figura 103. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj18 obtido por [ESI(+)-EMAR].	184

Figura 104. Primeira estrutura parcial da substância Dj22 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .....	185
Figura 105. Segunda estrutura parcial da substância Dj22 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .....	185
Figura 106. Estrutura parcial proposta para o composto Dj22.....	186
Figura 107. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj22. ....	187
Figura 108. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj22. ....	187
Figura 109. Mapa de correlação HSQC (400/100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj22. ....	188
Figura 110. Mapa de correlação HMBC (400/100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj22.....	188
Figura 111. Mapa de correlação COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj22.....	189
Figura 112. Primeira estrutura parcial da substância Dj23 com correlações observadas no mapa de HMBC.....	190
Figura 113. Segunda estrutura parcial da substância Dj23 com correlações observadas no mapa de HMBC.....	190
Figura 114. Estrutura parcial proposta para o composto Dj23.....	190
Figura 115. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj23. ....	191
Figura 116. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj23. ....	192
Figura 117. Mapa de correlação HSQC (400/100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj23. ....	192
Figura 118. Mapa de correlação HMBC (400/100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj23.....	193
Figura 119. Mapa de correlação COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj23.....	193
Figura 120. Estrutura parcial da substância Dj26 com as correlações observadas nos mapas de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .....	195
Figura 121. Estrutura da substância Dj26 (1-(metildissulfanil)-5-(metiltio)undecan-3-ona).....	196
Figura 122. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj26. ....	197

Figura 123. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj26. ....	198
Figura 124. Espectro de RMN DEPT 135 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj26. ....	198
Figura 125. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj26. ....	199
Figura 126. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj26. ....	199
Figura 127. Mapa de correlação COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj26. ....	200
Figura 128. Espectro de massas de alta resolução (modo varredura) do composto Dj26 obtido por [ESI(+)-EMAR]. ....	200
Figura 129. Estrutura parcial da substância Dj15 com as correlações verificadas no mapa de HMBC. ....	202
Figura 130. Estrutura da substância Dj15 ( $\alpha$ -tocoferol). ....	202
Figura 131. Estrutura da porção do núcleo benzopirânico dos diferentes tipos de tocoferóis e tocotrienóis. ....	203
Figura 132. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj15. ....	206
Figura 133. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj15. ....	206
Figura 134. Espectro de DEPT 135 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj15. ....	207
Figura 135. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj15. ....	207
Figura 136. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj1. ....	208
Figura 137. Estrutura parcial da substância Dj20 com as correlações verificadas no mapa de HMBC. ....	209
Figura 138. Estrutura da substância Dj20 ( $\gamma$ -tocoferol). ....	210
Figura 139. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj20. ....	212
Figura 140. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj20. ....	212
Figura 141. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj20. ....	213
Figura 142. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj20. ....	213

Figura 143. Estrutura parcial da substância Dj25 com correlações observadas no mapa de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .....	215
Figura 144. Estrutura da substância Dj25 ( $\alpha$ -tocoferil-quinona).....	215
Figura 145. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj25. ....	218
Figura 146. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj25. ....	218
Figura 147. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj25. .....	219
Figura 148. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj25. .....	219
Figura 149. Mapa de correlação COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj25.....	220
Figura 150. Esquema de fragmentação da substância Dj21 (fitol) com base no espectro de CG-EM (IE, 70 eV).....	221
Figura 151. Estrutura parcial proposta para a substância Dj21. ....	222
Figura 152. Estrutura da substância Dj21 (fitol). ....	222
Figura 153. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da fração contendo de Dj21.....	223
Figura 154. Cromatograma obtido por CG-EM da fração contendo a substância Dj21. ....	223
Figura 155. Espectro de massas da substância Dj21 obtido por CG-EM (EI, 70 eV).....	224
Figura 156. Primeira estrutura parcial da substância Dj19 com correlações observadas para os anéis A e B nos mapas de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . ....	225
Figura 157. Segunda estrutura parcial da substância Dj19 com correlações observadas na cadeia lateral nos mapas de HMBC e COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . ....	226
Figura 158. Estrutura proposta para o composto Dj19 com destaque para as demais correlações observadas no mapa de HMBC. ....	227
Figura 159. Estrutura da substância Dp19 (fucosterol).....	228
Figura 160. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj19. ....	230
Figura 161. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Dj19. ....	230

Figura 162. Espectro de RMN DEPT 135 (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj19.231	
Figura 163. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj19. .....	231
Figura 164. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj19. .....	232
Figura 165. Mapa de correlação COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj19. ....	232
Figura 166. Espectro de massas do composto Dj19 obtido por CG-EM (EI, 70 eV). ....	233
Figura 167. Estrutura da substância Dj12 (ftalato de bis(2-etil-hexila). .....	235
Figura 168. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj12. ....	236
Figura 169. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj12 obtido por [ESI(+)-EMAR]. ....	236
Figura 170. Estrutura parcial da substância Dj14 com correlações observadas na cadeia lateral no mapa de HMBC. ....	237
Figura 171. Estrutura da substância Dj14 (ftalato de di-isobutila). ....	238
Figura 172. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj14. ....	239
Figura 173. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj14. ....	239
Figura 174. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj14. .....	240
Figura 175. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Dj14. .....	240
Figura 176. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj14 obtido por [ESI(+)-EMAR]. ....	241
Figura 177. Compostos isolados do extrato DP-VII. ....	242
Figura 178. Fluxograma do fracionamento do extrato DP-VII. ....	243
Figura 179. Representação da transformação do MTT em formazana no ensaio de atividade citotóxica. ....	244
Figura 180. Tabela gerada na triagem de possíveis alvos moleculares para o composto Dj13, com a ferramenta SwissTargetPrediction .....	253

Figura 181. Perfil de inibição da enzima acetilcolinesterase pelo composto Dj13. .... 254



## LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Compostos do tipo C <sub>11</sub> relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> . .....	50
Quadro 2. Compostos contendo enxofre relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> . .....	58
Quadro 3. Terpenos relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> . .....	63
Quadro 4. Meroditerpenos relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> . .....	70
Quadro 5. Compostos halogenados relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> . .....	72
Quadro 6. Estudos relacionados aos aspectos ecológicos realizados com espécies de <i>Dictyopteris</i> . .....	83



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista de algas do gênero <i>Dictyopteris</i> coletas em ilhas oceânicas brasileiras.....	94
Tabela 2. Compostos isolados do extrato DJ-I.....	118
Tabela 3. Dados espectrais de RMN da substância Dj1 obtidos no presente trabalho, em comparação com a literatura para a substância bis( <i>E</i> )-(3-oxo-undec-4-enil)dissulfeto.....	127
Tabela 4. Dados espectrais de RMN da substância Dj5 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para a substância ( <i>E</i> )-1-(5-metiltio-3-oxo-undecil)dissulfanilundec-4-en-3-ona.....	135
Tabela 5. Dados espectrais de RMN da substância Dj7 obtidos no presente trabalho e em comparação com os dados da substância Dj1.	141
Tabela 6. Dados espectrais de RMN da substância Dj9 obtidos no presente trabalho.....	147
Tabela 7. Comparação dos dados espectrais de RMN da estrutura parcial referentes a um dos monômeros da substância Dj11 com o composto Dj1.....	152
Tabela 8. Dados espectrais de RMN da substância Dj11 obtidos no presente trabalho.....	156
Tabela 9. Dados espectrais de RMN da substância Dj13 obtidos no presente trabalho e em comparação com dados da literatura para a substância 3-hexil-4,5-ditiacicloheptanona.....	162
Tabela 10. Dados espectrais de RMN da substância Dj16 obtidos no presente trabalho e em comparação com dados da literatura para a substância 2-hexil-tetrahidrotiopiran-4-ona.....	170
Tabela 11. Dados espectrais de RMN da substância Dj17 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para a substância ( <i>E</i> )-1-(3-oxo-undecil)-dissulfanilundec-4-en-3-ona.....	176
Tabela 12. Dados espectrais de RMN da substância Dj18 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para a substância ( <i>E</i> )-1-(metiltio)undec-4-en-3-ona.....	182
Tabela 13. Dados espectrais de RMN da substância Dj22 obtidos no presente trabalho.....	186

Tabela 14. Dados espectrais de RMN da substância Dj23 obtidos no presente trabalho. ....	191
Tabela 15. Dados espectrais de RMN de <sup>13</sup> C obtidos para a fração JIES17-4-5 e sua comparação com o monômero saturado do composto Dj5. ....	196
Tabela 16. Dados espectrais de RMN da substância Dj26 obtidos no presente trabalho. ....	197
Tabela 17. Dados espectrais de RMN da substância Dj15 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para α-tocoferol. ....	205
Tabela 18. Dados espectrais de RMN da substância Dj20 obtidos no presente trabalho, em comparação com a literatura para as substâncias β-tocoferol e γ-tocoferol. ....	211
Tabela 19. Dados espectrais de RMN da substância Dj25 e em comparação com a literatura para α-tocoferil-quinona. ....	217
Tabela 20. Comparação dos dados espectroscópicos de RMN de <sup>13</sup> C entre Dj19, fucosterol e isofucosterol. ....	228
Tabela 21. Dados espectrais de RMN da substância Dj19 obtidos no presente trabalho, em comparação com dados da literatura para o fucosterol. ....	229
Tabela 22. Dados espectrais de RMN da substância Dj12 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para a substância ftalato de bis(2-etil-hexila). ....	235
Tabela 23. Dados espectrais de RMN da substância Dj14 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para a substância ftalato de di-isobutila. ....	238
Tabela 24. Compostos isolados do extrato DP-VII. ....	242
Tabela 25. Resultados da avaliação preliminar da atividade citotóxica (CI <sub>50</sub> (CI 95 %) em µg/mL). ....	246
Tabela 26. Resultados da avaliação da atividade amebicida sobre trofozoítos de <i>A. castellanii</i> T4. ....	249
Tabela 27. Resultados da avaliação das atividades anticoagulante e antiagregante plaquetária. ....	252

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS, SIGLAS, UNIDADES E FÓRMULAS

$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$\delta_{\text{C}}$	Deslocamento químico em ppm no espectro de RMN $^{13}\text{C}$
$\delta_{\text{H}}$	Deslocamento químico em ppm no espectro de RMN $^1\text{H}$
$\mu\text{g}$	Micrograma
$\mu\text{L}$	Microlitro
$\mu\text{m}$	Micrômetro
$\mu\text{M}$	Micromolar
<b>293A</b>	Linhagem celular de rim embrionário
<b>3T3-L1</b>	Linhagem celular de pré-adipócitos de embriões de camundongos suíços extraídas prematuramente
<b>a.C.</b>	Antes de Cristo
<b>A-2058</b>	Linhagem celular de melanoma metastático humano
<b>A-549</b>	Linhagem celular de carcinoma de pulmão humano
<b>AcOEt</b>	Acetato de etila
<b>AChE</b>	Acetilcolinesterase
<b>ADP</b>	Difosfato de adenosina
<b>ATCC</b>	<i>American Type Culture Collection</i>
<b>B16-F10</b>	Linhagem celular de melanoma metastático murinho
<b>BHE</b>	Barreira hematoencefálica
<b>BuChE</b>	Butirilcolinesterase
<b>CCA</b>	Cromatografia em coluna aberta
<b>CCD</b>	Cromatografia em camada delgada
<b><math>\text{CDCl}_3</math></b>	Clorofórmio deuterado
<b>CG-EM</b>	Cromatografia gasosa - Espectrometria de massas
<b><math>\text{CI}_{50}</math></b>	Concentração inibitória 50 %
<b>CIM</b>	Concentração inibitória mínima
<b>CL-60</b>	Linhagem celular de leucemia promielocítica humana
<b>CLAE</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>CLV</b>	Cromatografia líquida a vácuo
<b>COSY</b>	Espectroscopia de correlação ( <i>Correlation spectroscopy</i> )
<b>COX</b>	Ciclooxigenase
<b>CV-1</b>	Linhagem celular de células normais de rim de macacos
<b>d</b>	Dupleto
<b>dd</b>	Duplo dupleto
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-picril-hidrazila
<b>DEPT</b>	Intensificação da distorção por transferência de polarização ( <i>Distortionless enhancement by polarization transfer</i> )
<b>dL</b>	Decilitro

<b>dl</b>	Dupleto largo
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico ( <i>Deoxyribonucleic acid</i> )
<b>DP</b>	Desvio padrão
<b>dt</b>	Duplo tripleto
<b>EFS</b>	Extração em fase sólida
<b>EMAR</b>	Espectrometria de massas de alta resolução
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>ESI</b>	Ionização por electrospray ( <i>Electrospray ionization</i> )
<b>eV</b>	Elétron-volt
<b>Ext.</b>	Extrato
<b>FID</b>	Decaimento de indução livre ( <i>Free Induction Decay</i> )
<b>g</b>	Gramas
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Água
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Ácido sulfúrico
<b>HCT-116</b>	Linhagem celular de adenocarcinoma de cólon
<b>HeLa</b>	Linhagem celular de carcinoma cervical
<b>HL-60</b>	Linhagem celular de leucemia promielocítica humana
<b>HMBC</b>	Correlação heteronuclear através de múltiplas ligações ( <i>Heteronuclear multiple bond correlation</i> )
<b>HSQC</b>	Correlação heteronuclear de quantum-simples ( <i>Heteronuclear single quantum correlation</i> )
<b>HT-22</b>	Linhagem celular neuronal de hipocampal
<b>HT-29</b>	Linhagem celular de carcinoma de cólon humano
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IC 95 %</b>	Intervalo de confiança 95 %
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>J</b>	Constante de acoplamento
<b>KB</b>	Linhagem celular de carcinoma epidermoide oral humano
<b>kg</b>	Quilograma
<b>m</b>	Multiplete
<b>m/z</b>	Massa/carga
<b>MeOH</b>	Metanol
<b>mg</b>	Miligramas
<b>MHz</b>	Mega-Hertz
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mm<sup>3</sup></b>	Milímetro cúbico
<b>MTT</b>	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
<b>Mult</b>	Multiplicidade
<b>nm</b>	Nanômetro
<b>NO</b>	Óxido nítrico

<b>OE</b>	Óleo essencial
<b>PAF</b>	Fator de ativação plaquetária
<b>PBS</b>	Tampão fosfato-salino
<b>PC3-M</b>	Linhagem celular de carcinoma de próstata metastático humano
<b>PGE<sub>2</sub></b>	Prostaglandina E <sub>2</sub>
<b>PHMB</b>	Polihexametilbiguanida
<b>ppm</b>	Partes por milhão
<b>PPP</b>	Plasma pobre em plaquetas
<b>pq</b>	Pseudoquadruplo
<b>PRP</b>	Plasma rico em plaquetas
<b>PTP1B</b>	Proteína tirosina fosfatase 1B
<b>PYG</b>	Meio de cultivo proteose peptona, extrato de levedo e glicose ( <i>Peptone-yeast extract-glucose</i> )
<b>q</b>	Quadruplo
<b>RAW 264.7</b>	Linhagem celular de macrófagos murinos
<b>Rf</b>	Fator de retenção ( <i>Retardation factor</i> )
<b>RMN</b>	Ressonância magnética nuclear
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
<b>RPMI</b>	Meio de cultivo Roswell Park Memorial Institute
<b>RPMI-7951</b>	Linhagem celular de melanoma metastático humano
<b>s</b>	Simpleto
<b>sept</b>	Septeto
<b>sl</b>	Simpleto largo
<b>SW-480</b>	Linhagem celular de adenocarcinoma de cólon
<b>t</b>	Tripleto
<b>TMS</b>	Tetrametilsilano
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral alfa
<b>TOP1</b>	Topoisomerase I
<b>TP</b>	Tempo de protrombina
<b>TTPa</b>	Tempo de tromboplastina parcial ativada
<b>UFLC</b>	Cromatografia Líquida Ultra Rápida ( <i>Ultra fast liquid chromatography</i> )
<b>ZEE</b>	Zona Econômica Exclusiva



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>39</b>
1.1 INTRODUÇÃO .....	39
1.2 PRODUTOS NATURAIS MARINHOS .....	41
1.3 A AMAZÔNIA AZUL E ILHAS OCEÂNICAS BRASILEIRAS .	43
1.4 ALGAS .....	45
1.5 GÊNERO <i>DICTYOPTERIS</i> .....	45
<b>1.5.1 Compostos relatados para o gênero <i>Dictyopteris</i> .....</b>	<b>47</b>
1.5.1.1 Compostos do tipo C <sub>11</sub> .....	47
1.5.1.2 Compostos contendo enxofre .....	56
1.5.1.3 Terpenos.....	59
1.5.1.4 Meroditerpenos.....	68
1.5.1.5 Compostos halogenados .....	71
1.5.1.6 Esteroides .....	72
<b>1.5.2 Atividades biológicas relatadas para o gênero <i>Dictyopteris</i> ....</b>	<b>76</b>
1.5.2.1 Antimicrobiana, antiviral e larvicida.....	76
1.5.2.2 Citotóxica .....	78
1.5.2.3 Anti-inflamatória.....	78
1.5.2.4 Antioxidante .....	79
1.5.2.5 Outras atividades de interesse clínico.....	80
1.5.2.6 Atividades relacionadas aos aspectos ecológicos.....	82
1.6 ATIVIDADE CITOTÓXICA.....	85
1.7 ATIVIDADE AMEBICIDA .....	86
1.8 ATIVIDADE SOBRE A HEMOSTASIA.....	87
1.9 TRIAGEM VIRTUAL DE ALVOS MOLECULARES .....	89
<b>2 OBJETIVO .....</b>	<b>91</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	91
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	91
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>93</b>
3.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS.....	93
<b>3.1.1 Material vegetal.....</b>	<b>93</b>
<b>3.1.2 Solventes, adsorventes e reagentes.....</b>	<b>95</b>
<b>3.1.3 Equipamentos .....</b>	<b>96</b>
3.2 MÉTODOS .....	97
<b>3.2.1 Obtenção dos extratos e avaliação de atividades biológicas ...</b>	<b>97</b>
<b>3.2.2 Procedimentos de fracionamento.....</b>	<b>97</b>
<b>3.2.3 Identificação ou elucidação estrutural.....</b>	<b>97</b>
3.2.3.1 Análises por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) 98	

3.2.3.2 Análises diretas em Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR) .....	98
3.2.3.3 Análises por Cromatografia Líquida Ultra Rápida acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução (UFLC-ESI-MS).....	99
3.2.3.4 Análises por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) .....	100
<b>3.2.4 Avaliação das atividades biológicas.....</b>	<b>100</b>
3.2.4.1 Avaliação da atividade citotóxica .....	100
3.2.4.2 Avaliação da atividade amebicida.....	101
3.2.4.3 Avaliação da atividade anticoagulante e antiagregante plaquetária.....	101
3.2.4.4 Avaliação da atividade anticolinesterásica.....	102
<b>3.2.5 Triagem virtual de alvos moleculares .....</b>	<b>103</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>104</b>
4.1 ANÁLISE GERAL DOS EXTRATOS .....	104
<b>4.1.1 Caracterização da presença de compostos contendo enxofre</b>	<b>108</b>
<b>4.1.2 Caracterização da presença de derivados de ácido ftálico ....</b>	<b>113</b>
4.2 ESTUDO QUÍMICO DO EXTRATO DJ-I.....	116
<b>4.2.1 Substâncias isoladas.....</b>	<b>123</b>
4.2.1.1 Compostos do tipo C <sub>11</sub> contendo enxofre .....	123
4.2.1.1.1 Substância Dj1 .....	123
4.2.1.1.2 Substância Dj5 .....	131
4.2.1.1.3 Substância Dj7 .....	138
4.2.1.1.4 Substância Dj9 .....	145
4.2.1.1.5 Substância Dj11 .....	151
4.2.1.1.6 Substância Dj13 .....	160
4.2.1.1.7 Substância Dj16 .....	166
4.2.1.1.8 Substância Dj17 .....	173
4.2.1.1.9 Substância Dj18 .....	180
4.2.1.1.10 Substância Dj22 .....	184
4.2.1.1.11 Substância Dj23 .....	189
4.2.1.1.12 Substância Dj26 .....	194
4.2.1.2 Compostos derivados de tocoferol .....	201
4.2.1.2.1 Substância Dj15 .....	201
4.2.1.2.2 Substância Dj20 .....	208
4.2.1.2.3 Substância Dj25 .....	214
4.2.1.3 Compostos terpênicos .....	220
4.2.1.3.1 Substância Dj21 .....	220
4.2.1.4 Esteroides .....	224
4.2.1.4.1 Substância Dj19 .....	224
4.2.1.5 Derivados de ácido ftálico.....	234

4.2.1.5.1 Substância Dj12 .....	234
4.2.1.5.2 Substância Dj14 .....	237
4.3 ESTUDO QUÍMICO DO EXTRATO DP-VII .....	241
<b>4.3.1 Substâncias isoladas .....</b>	<b>241</b>
4.4 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	244
<b>4.4.1 Atividade citotóxica.....</b>	<b>244</b>
<b>4.4.2 Atividade amebicida.....</b>	<b>247</b>
<b>4.4.3 Atividade sobre a hemostasia .....</b>	<b>249</b>
4.5 TRIAGEM VIRTUAL DE ALVOS MOLECULARES E AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA.....	253
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>256</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>260</b>
<b>7 PERSPECTIVAS .....</b>	<b>262</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>263</b>
<b>APÊNDICE A – PROCEDIMENTOS CROMATOGRÁFICOS ADOTADOS PARA PURIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS .....</b>	<b>299</b>
<b>APÊNDICE B – TRABALHOS PRODUZIDOS COMO RESULTADO DA TESE .....</b>	<b>325</b>



# 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 1.1 INTRODUÇÃO

Há milênios, produtos naturais vêm sendo utilizados na medicina tradicional de vários povos para o tratamento de doenças prevalentes (CHIN et al., 2006) e muitos serviram de base para o desenvolvimento de medicamentos (ex., morfina, digitálicos, penicilinas, etc.) (MOLINSKI et al., 2009).

Há registros de utilização de produtos naturais marinhos como remédios por povos orientais desde 3.000 a.C. (KOLANJINATHAN; GANESH; SARANRAJ, 2014), e muitas indicações de algas para o tratamento de enfermidades podem ser encontradas em farmacopeias chinesas (LIU et al., 2012). Os antigos fenícios também já empregavam uma secreção de cor roxa, produzida por moluscos marinhos, para tingir tecidos, enquanto as algas eram utilizadas como fertilizantes (CRAGG; NEWMAN, 2013).

Apesar de promissores, devido principalmente ao difícil acesso, os organismos marinhos passaram a ser investigados de maneira sistemática apenas recentemente. Desta forma, desde o início do século XXI vem-se testemunhando o aumento do interesse pela pesquisa de produtos naturais marinhos. Considerando que menos de 3 % do total estimado de organismos marinhos já tenha sido estudado, fica evidente que há inúmeras possibilidades de investigações nessa área (COSTA-LOTUFO et al., 2009).

Compostos de origem marinha vêm se tornando uma importante opção para o desenvolvimento de produtos cosméticos, farmacêuticos e na indústria alimentícia. Nas últimas duas décadas, o *screening* de uma grande variedade de compostos de origem marinha possibilitou a identificação de diversas atividades biológicas, destacando-se a antiviral, antibacteriana, antifúngica, antiparasitária, antitumoral e anti-inflamatória (RUIZ-TORRES et al., 2017).

O câncer é considerado a segunda maior causa de morte no mundo, projetando-se para o ano de 2035 um aumento na incidência para 24 milhões de novos casos por ano (ARE et al., 2018). Por conta disso, é considerado um problema de saúde pública, possuindo grande amplitude epidemiológica, social e econômica. O crescimento do número de casos pode estar relacionado ao aumento da exposição aos fatores de risco, envelhecimento da população e aprimoramento do diagnóstico (TORRES et al., 2016). Apesar de ser um conjunto de doenças, o câncer é resultado de uma série de mutações em genes, as

quais levam a alterações das funções celulares (HASSANPOU; DEHGhani, 2017). O tratamento pode ser realizado através de cirurgia, radioterapia e quimioterapia, e em muitos casos, é necessário combinar mais de uma modalidade (INCA, 2017). Apesar do grande número de medicamentos quimioterápicos, vários problemas estão associados ao tratamento, como alta incidência de reações adversas e resistência a estes fármacos (BRIGGER; DUBERNET; COUVREUR, 2012).

Com relação às doenças cardiovasculares, segundo uma pesquisa recente realizada por Siqueira, Siqueira-Filho e Land (2017) a mortalidade por estas doenças representa 28 % do total de óbitos ocorridos no Brasil nos últimos cinco anos. Este crescimento estaria relacionado principalmente ao envelhecimento populacional. Dentre os fatores de risco, encontram-se os distúrbios na hemostasia, que podem levar à síndrome coronariana aguda bem como ao tromboembolismo venoso (OLIVEIRA; FARMER, 2003). Fármacos antitrombóticos, que incluem antiagregantes plaquetários e anticoagulantes, são utilizados para prevenir e tratar muitas doenças cardiovasculares e constituem alguns dos fármacos mais comumente prescritos no mundo (MEGA; SIMON, 2015). No entanto, várias limitações estão associadas ao uso destes medicamentos, incluindo eficácia limitada, questões de segurança pelo risco de hemorragia, resistência, via de administração parenteral (em muitos casos), entre outras (ANGIOLILLO; UENO; GOTO, 2010).

A ceratite amebiana e a encefalite amebiana granulomatosa são causadas por protozoários do gênero *Acanthamoeba*, pertencentes ao grupo de amebas de vida livre, amplamente distribuídas na natureza. O interesse no estudo destas doenças cresceu nos últimos anos, devido ao aumento nos casos registrados, que pode ser associado principalmente a elevação do número de usuários de lentes de contato (LORENZO-MORALES et al., 2013). O tratamento é inespecífico e de longa duração, realizado com antissépticos de uso tópico, os quais muitas vezes são ineficazes para a forma de cisto do protozoário, além de poderem se apresentar irritantes e tóxicos para os pacientes (DERDA; HADAS; THIEM, 2008).

Diante das limitações apresentadas pelas terapias atuais com relação às enfermidades citadas, a busca de novos fármacos com melhores perfis terapêuticos constitui um grande desafio para a comunidade científica na atualidade. Maior atenção está sendo dispensada para os produtos naturais, vistos como uma importante fonte de novos fármacos, especialmente os de origem marinha, ainda pouco

investigados quando comparados aos produtos naturais provenientes de organismos terrestres.

Neste contexto, as algas do gênero *Dictyopteris* compreendem um grupo singular de algas que são conhecidas por seu “odor de praia” característico (PETTUS; MOORE, 1971). Esta propriedade chamou a atenção de pesquisadores, impulsionando os primeiros estudos com espécies deste gênero. Os trabalhos realizados demonstraram principalmente a presença de compostos do tipo C<sub>11</sub>, além de diversos outros derivados contendo enxofre, bem como terpenos, compostos halogenados, quinonas e esteroides. O potencial biológico de algumas espécies também já foi demonstrado, destacando-se as atividades citotóxica, antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante. Do ponto de vista ecológico, destaca-se a atividade anti-herbivoria.

Considerando o disposto acima, o presente trabalho tem como objetivo a investigação química e biológica de espécies de *Dictyopteris* coletadas no âmbito das ilhas oceânicas brasileiras. A seguir, será apresentada uma breve revisão a respeito de produtos naturais marinhos, ilhas oceânicas brasileiras e o gênero *Dictyopteris*. Alguns tópicos com relação às atividades biológicas avaliadas neste estudo também serão abordados.

## 1.2 PRODUTOS NATURAIS MARINHOS

Os oceanos cobrem cerca de 70 % da superfície da Terra e abrangem grande biodiversidade (FENICAL, 2006; LAM, 2006). Os ecossistemas marinhos são fonte de produtos naturais notáveis. As algas, os invertebrados e os micro-organismos marinhos produzem substâncias que são utilizadas nas indústrias de cosméticos, suplementos nutricionais e medicamentos (YASUHARA-BELL et al., 2010).

Os metabólitos marinhos parecem apresentar maior riqueza em diversidade estrutural em comparação com os obtidos de fontes terrestres, bem como maior incidência de bioatividade (ZHANG et al., 2016). Os organismos marinhos sésseis (como algas, esponjas e corais) competem para sobreviver em um ambiente extremamente inóspito. A função ecológica das substâncias ativas isoladas de fontes marinhas seria auxiliar na competição por espaço ou na defesa contra predadores (COSTA-LOTUFO et al., 2009). Além disso, condições de temperatura, salinidade, exposição à radiação solar, ação das ondas e pressão atmosférica (conforme a profundidade) são fatores que influenciam seus metabolismos (STENGEL; CONNAN; POPPER, 2011).

A moderna química de produtos naturais marinhos iniciou em 1951, quando Bergmann isolou da esponja *Cryptotethya crypta* os análogos de ácido nucleico espongotimidina e espongouridina, que inspiraram o desenvolvimento do antitumoral citarabina e dos antivirais vidarabina e zidovudina, estimulando o interesse por substâncias provenientes de organismos marinhos (FENICAL, 2006; MOLINSKI et al., 2009). Dessa forma, observou-se um aumento de investimentos por parte da indústria farmacêutica nesta área, nos últimos anos (RANGEL; FALKENBERG, 2015). Além disso, somente no ano de 2015, 1340 novos compostos de origem marinha foram relatados na literatura (BLUNT et al., 2017).

Apesar do aumento global do interesse em produtos naturais marinhos, o investimento em espécies marinhas é muito menor em relação às terrestres (JOLY et al., 2011), e grande parte desta riqueza permanece ainda inexplorada e subutilizada (MATTA et al., 2011). Nesse sentido, o Brasil apresenta um extenso litoral (mais de 8.000 km) e um grande potencial em biodiversidade marinha a ser explorado (BERLINCK et al., 2004).

Atualmente, existem no mercado nove fármacos relacionados a substâncias de origem marinha, sendo eles: os antitumorais citarabina, trabectedina (Yondelis<sup>®</sup>), mesilato de eribulina (Halaven<sup>®</sup>), brentuximabe vedotina (Adcetris<sup>®</sup>), plitidepsina (Aplidin<sup>®</sup>); os antivirais vidarabina e iota-carragenina (Carragelose<sup>®</sup>); o analgésico neuropático ziconotida (Prialt<sup>®</sup>) e ésteres etílicos do ácido ômega-3 (Lovaza<sup>®</sup>), utilizados para o tratamento de hipertrigliceridemia. Além destes, vários outros se encontram em testes clínicos, principalmente para o tratamento de câncer (ZHANG et al., 2016; JIMÉNEZ, 2018; DELGADO-CALLE et al., 2019).

Diante da notoriedade que os produtos naturais marinhos vêm ganhando nos últimos anos, foram criadas algumas empresas voltadas especificamente para atuar neste ramo, como a empresa espanhola PhamaMar, divisão do grupo Zeltia, voltada para o desenvolvimento de fármacos antitumorais de origem marinha (COSTA-LOTUFO et al., 2009).

Além disso, outras vertentes têm sido exploradas, como aplicações nas áreas de nutracêuticos, aquicultura, produção de agentes anti-incrustantes, inibidores de biofilmes e em biorremediação, substituição de tecidos e ossos, indústria alimentícia entre outras (FELÍCIO; OLIVEIRA; DEBONSI, 2012).

### 1.3 A AMAZÔNIA AZUL E ILHAS OCEÂNICAS BRASILEIRAS

Além da riqueza compreendida no ambiente terrestre, o Brasil possui uma vasta área marítima praticamente inexplorada. Grande parte pertence à faixa denominada Zona Econômica Exclusiva (ZEE), a qual fica situada entre o limite externo do mar territorial e 200 milhas náuticas de distância da costa, compreendendo cerca de 3,5 milhões de quilômetros quadrados. Nesta região o Brasil exerce soberania sobre a exploração e aproveitamento, conservação e gestão dos recursos naturais. Diante da importância de toda esta extensão marítima, a mesma tem sido denominada de “Amazônia Azul”, sendo tão vulnerável, do ponto de vista ambiental e estratégico, quanto a Amazônia continental (CASTRO et al., 2017).

Neste ambiente estão inseridas as ilhas oceânicas brasileiras, as quais se distinguem das ilhas continentais em razão da maior distância em relação ao continente e por nunca terem apresentado conexão com o mesmo (WHITTAKER; FERNÁNDEZ-PALACIOS, 2007). Cinco conjuntos de ilhas oceânicas fazem parte da Amazônia Azul: Arquipélago de Fernando de Noronha, Ilha de Trindade e Arquipélago Martim Vaz, Atol das Rocas e Arquipélago de São Pedro e São Paulo. Todos estes conjuntos são isolados do continente (chegando a estar até 1.160 km da costa do Espírito Santo, no caso da Ilha de Trindade e o Arquipélago de Martim Vaz) e originados por formações vulcânicas, com exceção de São Pedro e São Paulo (Figura 1) (SERAFINI; FRANÇA; ANDRIGUETTO-FILHO, 2010).

Figura 1. Localização das ilhas oceânicas brasileiras.



Fonte: As fotos foram obtidas do site <http://www.sisbiota.ufsc.br/peld.html>.

As ilhas oceânicas possuem ecossistemas únicos, os quais permitem o desenvolvimento de uma grande biodiversidade (BORGES et al., 2009). De maneira particular, as ilhas oceânicas brasileiras estão localizadas em mares tropicais, e, portanto, favoráveis ao desenvolvimento de uma biota marinha rica e diversa (FLOETER et al., 2008; LONGO et al., 2015). Nesse aspecto, a investigação da composição química e das propriedades biológicas dos extratos de algas coletadas nestes ambientes representa uma grande oportunidade de obtenção de metabólitos potencialmente inéditos e/ou providos de relevantes atividades biológicas, que podem ser candidatos a fármacos ou protótipos para desenvolvimento de novos fármacos.

No entanto, quando consideramos trabalhos relacionados às espécies que habitam as ilhas oceânicas brasileiras, existem poucos estudos e a diversidade química dos metabólitos produzidos pelas algas encontradas nestes locais permanece ainda inexplorada. O projeto de âmbito nacional ProspecMar-Ilhas, iniciado em 2014, tem permitido a

coleta de inúmeras espécies de algas em ilhas oceânicas brasileiras, inclusive para a realização da presente tese. Nove universidades e 15 programas de pós-graduação estão envolvidos em diferentes vertentes na geração do conhecimento a partir da biodiversidade marinha destes locais.

#### 1.4 ALGAS

As algas são a base da cadeia alimentar no ambiente marinho (DE CLERCK; BOGAERT; LELIAERT, 2012), podendo fazer parte do *bentos* (quando fixas no substrato) ou do *plâncton* (suspensas na água) (STENGEL; CONNAN; POPPER, 2011).

As macroalgas são talófitas, ou seja, são carentes de raiz, caule e folhas (LEE, 1999). Em função do tipo de material de reserva e de pigmentos presentes nas células, podem ser classificadas como: verdes, pardas, e vermelhas, sendo as duas últimas consideradas de maior interesse fitoquímico (BLUNT et al., 2015).

As algas pardas estão divididas em 18 ordens e 54 famílias (SILBERFELD; ROUSSEAU; REVIERS, 2014). A cor pode variar do marrom-escuro ao verde-oliva, conforme a proporção de pigmento marrom (fucoxantina) e clorofila (ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA, 2015). Algumas são relativamente pequenas (alguns milímetros), no entanto algumas espécies, como as do gênero *Macrocystis*, podem alcançar até 40 metros (WOMERSLEY, 1954 apud ROUSSEAU et al., 2001). Na costa brasileira, apesar de não haver algas pardas tão grandes, este grupo constitui o mais importante em termos de biomassa (OLIVEIRA-FILHO 1977 apud FLEURY et al., 1994a), sendo representado principalmente pelas ordens Dictyotales e Fucales.

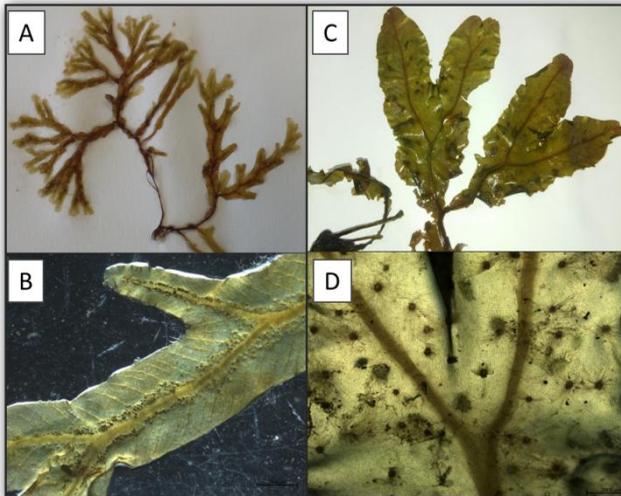
#### 1.5 GÊNERO *DICTYOPTERIS*

O gênero *Dictyopteris* J.V. Lamouroux (do Grego Dictyon = rede, e Pteris = samambaia), proposto inicialmente por Lamouroux em 1809 (NIZAMUDDIN; SAIFULLAH, 1966) pertence à ordem Dictyotales, que também inclui os gêneros *Dictyota*, *Canistrocarpus* e *Padina* (SILBERFELD; ROUSSEAU; REVIERS, 2014). Espécies de *Dictyopteris* ocorrem em mares de regiões tropicais, subtropicais e temperadas (GUIRY; GUIRY, 2017; NIZAMUDDIN; SAIFULLAH, 1967). Atualmente o gênero inclui 35 espécies (GUIRY; GUIRY, 2017), algumas delas já apresentando dados químicos e de atividades biológicas bastante promissores, como descrito a seguir.

De acordo com a base de dados Algaebase (GUIRY; GUIRY, 2017), até o momento foram identificadas as seguintes espécies no Brasil: *D. areschougii* (J.Agardh) O.C.Schmidt, *D. delicatula* J.V.Lamouroux, *D. jamaicensis* W.R.Taylor, *D. jolyana* E.C.Oliveira & R.P.Furtado, *D. justii* J.V.Lamouroux, *D. plagiogramma* (Montagne) Vickers, e *D. polypodioides* (A.P.De Candolle) J.V.Lamouroux (nome atualmente aceito taxonomicamente, tendo como sinônimo *D. membranacea* Batters – dessa forma, por questões de padronização, esta espécie será referida ao longo do texto sempre como *D. polypodioides*). A Figura 2 apresenta o aspecto de duas espécies de *Dictyopteris* estudadas neste trabalho (*D. plagiogramma* e *D. jolyana*), onde é possível observar a nervura central evidente e a presença de esporângios.

Com relação aos usos populares, assim como observado para os organismos marinhos em geral, há poucos registros da utilização de espécies de *Dictyopteris* pela população. Destaca-se a espécie *D. plagiogramma*, conhecida popularmente como “limu lipoa”, que tem sido utilizada por havaianos substituindo a pimenta como condimento para peixe cru e outros alimentos (MOORE, 1977; PETTUS, 1971).

Figura 2. Aspecto das espécies *Dictyopteris plagiogramma* (A e B) e *D. jolyana* (C e D).



Fonte: A e C foram obtidas pela autora (2017); B e D foram obtidas com o microscópio ZEISS AXIO Zoom.V16 e com auxílio do consultor Ricardo Esquivel Torres.

### 1.5.1 Compostos relatados para o gênero *Dictyopteris*

Espécies de *Dictyopteris* são conhecidas particularmente por seu odor intenso (incomum em algas pardas), caracterizado como “aroma de praia”, e os primeiros estudos foram relacionados aos seus óleos. Takaoka e Ando (1951) analisaram o óleo essencial extraído de *D. divaricata* coletada na costa do Japão, o qual apresentava um odor característico. Do óleo essencial foi isolado um álcool sesquiterpênico identificado posteriormente por Irie, Yamamoto e Masamune (1964) como  $\delta$ -cadinol [73], juntamente com diversos outros compostos de mesmo esqueleto. Em trabalho subsequente com esta espécie, outros dois sesquiterpenos foram isolados: dictiopteron [94], dictiopteroal (isômeros  $\alpha$  [95] e  $\beta$  [96]) (KUROSAWA et al., 1966).

Contemplando os primeiros trabalhos, Ando (1953) estudou a espécie *D. dichotoma* (Kuntze) O. Schmidt coletada no Japão. Um óleo de coloração marrom-amarelada com um peculiar aroma de praia foi obtido a partir da alga, identificando-se a presença de sesquiterpenos (estruturas não determinadas), juntamente com ácido palmítico, ácido hexadecanoico, e hidrocarbonetos simples.

A partir de então, diversos estudos começaram a ser realizados em relação à constituição química de algas deste gênero e diversas classes de compostos foram identificadas: hidrocarbonetos do tipo  $C_{11}$  e seus derivados, terpenos, meroditerpenos, compostos contendo enxofre, esteroides, compostos halogenados, compostos voláteis simples, polissacarídeos sulfatados e ácidos graxos. A seguir será apresentada uma revisão em relação a algumas destas classes de compostos.

#### 1.5.1.1 Compostos do tipo $C_{11}$

O "aroma de praia" dos óleos essenciais de *Dictyopteris* está relacionado principalmente à presença de compostos do tipo  $C_{11}$ . Estes compostos voláteis são considerados feromônios sexuais (MOORE, 1977; BOLAND, 1995), podendo ser produzidos por gametas ou no talo e liberados lentamente, exercendo também uma função bastante importante no controle da herbivoria (HAY et al., 1988).

Apesar destes compostos terem sido relatados também para outros grupos de algas pardas (por ex. os gêneros *Zonaria*, *Desmarestia*, *Dictyota*, *Ectocarpus*, *Laminaria* e *Fucus*) (BOLAND, 1995), bem como em algumas plantas, a abundância parece ser maior no gênero *Dictyopteris* (MOORE, 1977). Em muitas espécies, como *D.*

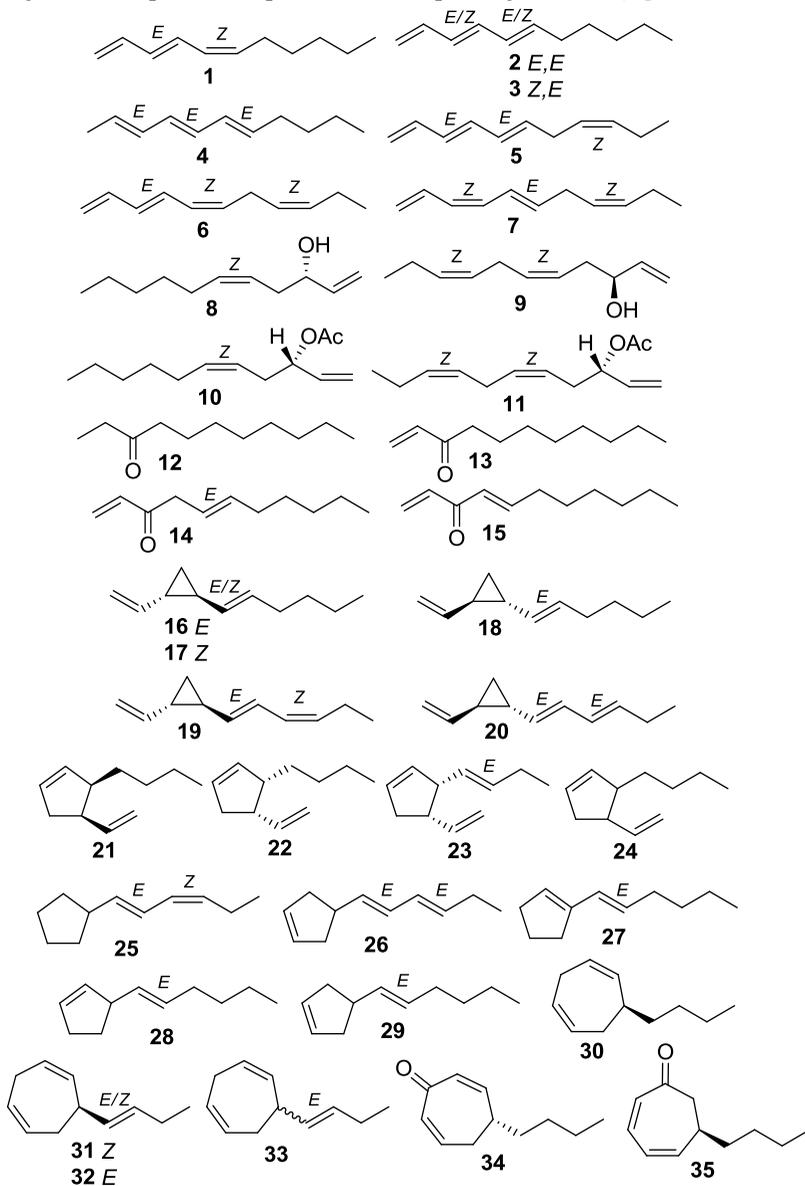
*plagiogramma*, *D. australis* (Sonder) Askenasy (MOORE, 1976 apud BOLAND; MÜLLER, 1987; MOORE; PETTUS; MISTYSYN, 1974), *D. prolifera* (Okamura) Okamura, *D. undulata* Holmes (anteriormente denominada de *D. zonarioides* Farlow) (KAJIWARA; KODAMA; HATANAKA, 1980) e *D. acrostichoides* (J. Agardh) Bornet (WIRTH et al. 1992), estes compostos podem representar mais 90 % da constituição do óleo essencial.

Vários tipos de estruturas podem ser encontradas, incluindo estruturas lineares e cíclicas, bem como hidrocarbonetos insaturados e seus isômeros (Figura 3). A semelhança estrutural sugere uma origem biossintética comum, a partir da clivagem oxidativa da terminação alifática de ácidos graxos insaturados C<sub>20</sub> (POHNERT; BOLAND, 2002; RUI; BOLAND 2010). De acordo com suas estruturas moleculares, estes compostos podem ser classificados em quatro grupos: olefinas acíclicas [1-15], ciclopropanos [16-20], ciclopentenos [21-29] e cicloheptadienos [30-35].

O isolamento de dictioptereno A [16] a partir das espécies *D. plagiogramma* e *D. australis* no Havaí constituiu o primeiro relato destes compostos (MOORE; PETTUS, 1968), seguindo-se o isolamento de outros compostos relacionados (dictiopterenos B [19], C' [30] e D [31]), juntamente com outros undecatrienos e undecatetraenos como minoritários (MOORE; PETTUS; MISTYSYN, 1974; PETTUS; MOORE, 1970; PETTUS; MOORE, 1971; PETTUS, 1971; PETTUS e MOORE, 1970; MOORE et al., 1972). Trabalhos posteriores demonstraram a presença destas classes de compostos em outras espécies do gênero, conforme apresentado no Quadro 1.

Os compostos [8-11] foram isolados de algumas espécies e considerados possíveis precursores para os compostos do tipo C<sub>11</sub> (YAMADA; TAN; TATEMATSU, 1979; YAMADA et al., 1980; YAMAMOTO et al., 2001).

Figura 3. Compostos do tipo C<sub>11</sub> relatados para o gênero *Dictyopterus*.



Fonte: A autora (baseada na literatura).

Quadro 1. Compostos do tipo C<sub>11</sub> relatados para o gênero *Dictyopteris*.

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
<i>E,Z</i> -undeca-1,3,5-trieno [1]	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havaí)	PETTUS, 1971
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Havaí	MOORE; MISTYSYN; PETTUS, 1972
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havaí)	MOORE; PETTUS; MISTYSYN, 1974
<i>E,E</i> -undeca-1,3,5-trieno [2]	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
	<i>D. latiscula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. polypodioides</i>	Beaulieu e Villefranche-sur-mer (França)	BOLAND; MULLER, 1987
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havaí)	PETTUS, 1971
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Havaí	MOORE; MISTYSYN; PETTUS, 1972
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havaí)	MOORE; PETTUS; MISTYSYN, 1974
	<i>D. prolifera</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
<i>Z,E</i> -undeca-1,3,5-trieno [3]	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Havaí	MOORE; MISTYSYN; PETTUS, 1972
<i>E,E,E</i> -undeca-2,4,6-trieno [4]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
<i>E,E,Z</i> -undeca-1,3,5,8-tetraeno [5]	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havaí)	PETTUS, 1971
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havaí)	MOORE; PETTUS; MISTYSYN, 1974
	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
<i>E,Z,Z</i> -undeca-1,3,5,8-tetraeno [6]	<i>D. latiscula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havaí)	MOORE; PETTUS; MISTYSYN, 1974
	<i>D. prolifera</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. sp.</i>	Havaí	PETTUS; MOORE, 1974
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001

Quadro 1. Compostos do tipo C<sub>11</sub> relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
Z,E,Z-undeca-1,3,5,8-tetraeno [7]	<i>D. polypodioides</i>	Beaulieu e Villefranche-sur-mer (França)	BOLAND; MULLER, 1987
Dictioprolenol [8]	<i>D. latiscula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. undulata</i>	Usa (Japão)	KAJIWARA; KAZUYA; HATANAKA, 1982
Neodictioprolenol [9]	<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. latiscula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
Dictioproleno [10]	<i>D. latiscula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. polypodioides</i>	Beaulieu e Villefranche-sur-mer (França)	BOLAND; MULLER, 1987
	<i>D. polypodioides</i>	Quiberon (França)	HATTAB et al., 2002
	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
	<i>D. prolifera</i>	N.I.	YAMADA; TAN; TATEMATSU, 1979
Neodictioproleno [11]	<i>D. prolifera</i>	Shima (Japão)	YAMADA et al., 1986
	<i>D. latiscula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. prolifera</i>	N.I.	YAMADA; OJIKI; TAN, 1980
	<i>D. prolifera</i>	Shima (Japão)	YAMADA et al., 1986
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
3-undecanona [12]	<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. polypodioides</i>	Beaulieu e Villefranche-sur-mer (França)	BOLAND; MULLER, 1987
1-undecen-3-ona [13]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
	<i>D. polypodioides</i>	Quiberon (França)	HATTAB et al., 2002
1,5-undecadien-3-ona [14]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
1,4-undecadien-3-ona [15]	<i>D. polypodioides</i>	Quiberon (França)	HATTAB et al., 2002
	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b

Quadro 1. Compostos do tipo C<sub>11</sub> relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
Dictioptereno A [16]	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
	<i>D. delicatula</i>	Mayreau (Caribe)	HAY et al., 1988
	<i>D. laticula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. polypodioides</i>	Quiberon (França)	HATTAB et al., 2002
	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
	<i>D. plagiogramma</i> e	Sandy Beach (Havaí)	PETTUS, 1971
	<i>D. australis</i>	Waikiki (Havaí)	MOORE; PETTUS, 1968
	<i>D. plagiogramma</i> e	Sandy Beach (Havaí)	MOORE; PETTUS; MISTYSYN, 1974
	<i>D. australis</i> (mistura)		
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	FUJIMURA et al., 1994
	<i>D. prolifera</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
	<i>D. prolifera</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. prolifera</i>	N.I.	YAMADA; TAN; TATEMATSU, 1979
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	KAJIWARA et al., 1980
	<i>D. sp.</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. undulata</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. undulata</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
	<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	KAJIWARA et al., 1980	
(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> )- <i>E</i> -1-[(1 <i>Z</i> )-hexenil]-2-vinilciclopropano [17]	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo, Hikoshima, Osaka (Japão)	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. undulata</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> )- <i>E</i> -2[(1 <i>Z</i> )-hexenil]-2-vinilciclopropano [18]	<i>D. laticula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001

Quadro 1. Compostos do tipo C<sub>11</sub> relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
Dictioptereno B [19] (hormosireno)	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
	<i>D. delicatula</i>	Mayreau (Caribe)	HAY et al., 1988
	<i>D. laticuscula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i>	Sandy Beach (Havaí)	PETTUS, 1971
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havaí)	MOORE; PETTUS; MISTYSYN, 1974
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	FUJIMURA et al., 1994
	<i>D. prolifera</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. prolifera</i>	N.I.	YAMADA; TAN; TATEMATSU, 1979
	<i>D. undulata</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001	
<i>D. sp.</i>	Havaí	PETTUS; MOORE, 1970	
<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001	
(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> )-1-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-hexa-1,3-dienil]-2-vinilciclopropano [20]	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> )-3-butil-4-vinilciclopenteno [21]	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
	<i>D. laticuscula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. prolifera</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> )-3-butil-4-vinilciclopenteno [22]	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
	<i>D. prolifera</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
	<i>D. sp.</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> )-3-(1 <i>E</i> )-1-buten-1-il-4-vinilciclopenteno [23]	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992

Quadro 1. Compostos do tipo C<sub>11</sub> relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
3-butil-4-vinilciclopenteno [24]	<i>D. polypodioides</i>	Beaulieu e Villefranche-sur-mer (França)	BOLAND; MULLER, 1987
	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007
	<i>D. polypodioides</i>	Quiberon (França)	HATTAB et al., 2002
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	FUJIMURA et al., 1994
4-(1E,3Z)-1,3-hexadienil-ciclopenteno [25]	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
4-(1E,3E)-1,3-hexadien-1-il-ciclopenteno [26]	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
1-(1E)-hexen-1-il-ciclopenteno [27]	<i>D. polypodioides</i>	Quiberon (França)	HATTAB et al., 2002
3-(1E)-hexen-1-il-ciclopenteno [28]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
4-[(1E)-hexenil]-ciclopenteno [29]	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	FUJIMURA et al., 1994
	<i>D. prolifera</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. laticula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
	<i>D. polypodioides</i>	Beaulieu e Villefranche-sur-mer (França)	BOLAND; MULLER, 1987
Dictioptereno C [30] (dictioteno)	<i>D. acrostichoides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
	<i>D. laticula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. divaricata</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
	<i>D. polypodioides</i>	Quiberon (França)	HATTAB et al., 2002
	<i>D. polypodioides</i>	Izmir (Turquia)	OZDEMIR et al., 2006
	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007
	<i>D. polypodioides</i>	Beaulieu e Villefranche-sur-mer (França)	BOLAND; MULLER, 1987
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havai)	MOORE; PETTUS; MISTYSYN, 1974
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havai)	PETTUS, 1971

Quadro 1. Compostos do tipo C<sub>11</sub> relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
Dictioptereno C [30] (dictioteno)	<i>D. prolifera</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
	<i>D. prolifera</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	FUJIMURA et al., 1994
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	KAJIWARA; KODAMA; HATANAKA, 1980
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. sp.</i>	Havaí	PETTUS; MOORE, 1971
	<i>D. sp.</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
	<i>D. undulura</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
	<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. undulata</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	KAJIWARA; KODAMA; HATANAKA, 1980	
Dictioptereno D [31] (ectocarpeno)	<i>D. acrostichooides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992
	<i>D. divaricata</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
	<i>D. latiscula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havaí)	PETTUS, 1971
	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Sandy Beach (Havaí)	MOORE; PETTUS; MISTYSYN, 1974
	<i>D. prolifera</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	FUJIMURA et al., 1994
	<i>D. prolifera</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	KAJIWARA; KODAMA; HATANAKA, 1980
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. sp.</i>	Havaí	PETTUS e MOORE, 1971
	<i>D. sp.</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
	<i>D. undulata</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. undulata</i>	N.I.	KAJIWARA et al., 1997
<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	KAJIWARA; KODAMA; HATANAKA, 1980	
( <i>E</i> )-ectocarpeno [32]	<i>D. acrostichooides</i>	Point Lonsdale e Sorrento (Austrália)	WIRTH et al., 1992

Quadro 1. Compostos do tipo C<sub>11</sub> relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
6-(1 <i>E</i> )-1-buten-1-il-1,4-cicloheptadieno [33]	<i>D. laticula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. polyodioides</i>	Beaulieu e Villefranche-sur-mer (França)	BOLAND; MULLER, 1987
	<i>D. prolifera</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	FUJIMURA et al., 1994
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
(+)-( <i>R</i> )-4-butilciclohepta-2,6-dienona [34]	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Havaí	MOORE; YOST, 1973
	(+)-6-butilciclohepta-2,4-dieno [35]	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Havaí

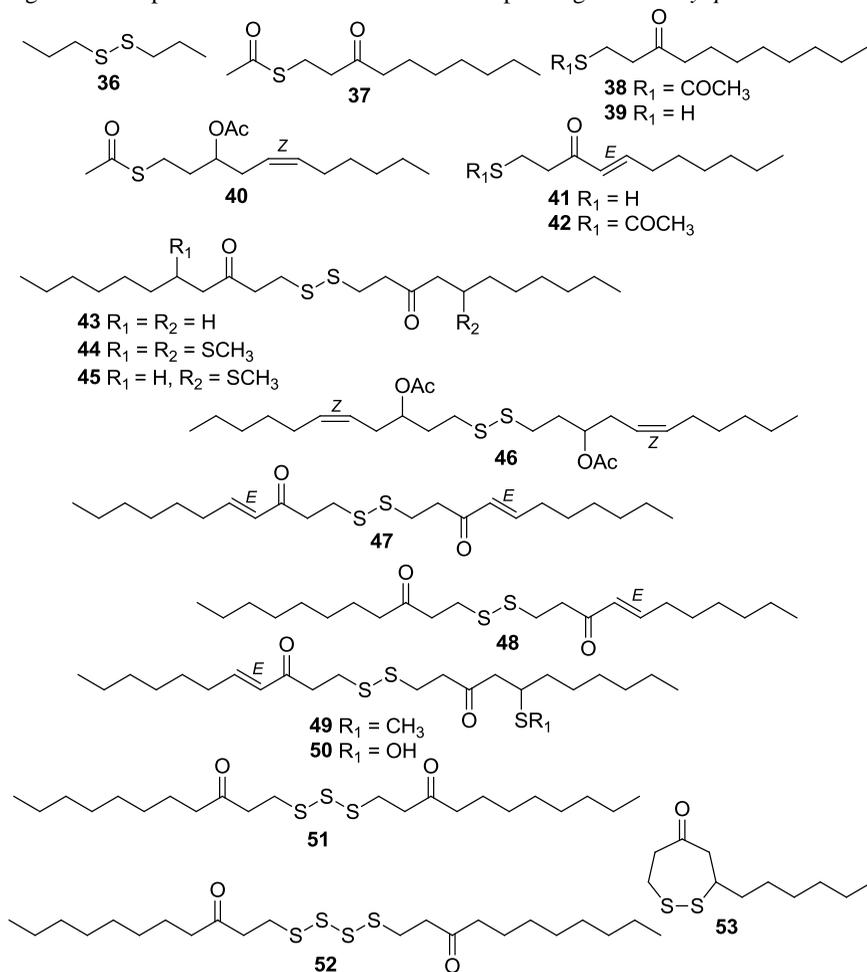
#### 1.5.1.2 Compostos contendo enxofre

Apesar da alta concentração de sulfato na água do mar, bem como de sulfito em ambientes pobres em oxigênio, poucos tinham sido os compostos relatados para organismos marinhos que contém enxofre em sua composição (FAULKNER, 1977). Como parte deste grupo, o gênero *Dictyopteris* têm se mostrado bastante promissor, com diversas novas estruturas [36-53] (Figura 4 e Quadro 2).

No primeiro estudo realizado por Moore, em 1971, foram obtidos um trissulfeto e um tetrassulfeto de um extrato da mistura de *D. plagiogramma* e *D. australis* coletadas no Havaí (MOORE, 1971). Nos anos seguintes, outros compostos semelhantes foram isolados destas mesmas espécies e, recentemente, uma série de dissulfetos ([43-45], [57-50], [53]) foi isolada a partir do extrato de *D. polyodioides* coletada na Baía de Gerolimenas, Grécia (DIMOU et al., 2016).

Sua origem biossintética parece estar relacionada à dos hidrocarbonetos C<sub>11</sub>, podendo ser resultado da degradação oxidativa de eicosanoides insaturados via intermediários oxigenados (SCHNITZLER; BOLAND; HAY, 1998; BOLAND, 1995). Ainda não se sabe exatamente o seu papel ecológico, no entanto, alguns estudos têm demonstrado o seu papel contra a herbivoria de pequenos consumidores, como as anfípodas, sendo relativamente menos eficazes contra herbívoros maiores, como ouriços-do-mar (SCHNITZLER; BOLAND; HAY, 1998; SCHNITZLER et al., 2001).

Figura 4. Compostos contendo enxofre relatados para o gênero *Dictyopterus*.



Fonte: A autora (baseada na literatura).

Quadro 2. Compostos contendo enxofre relatados para o gênero *Dictyopterus*.

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
dipropil dissulfeto [36]	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	FUJIMURA et al., 1994
[37]	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Havaí	MOORE; MISTYS YN; PETTUS, 1972
S-(3-oxoundecil) tioacetato [38]	<i>D. plagiogramma</i>	Havaí	ROLLER; AU; MOORE, 1971
(3-oxoundecil) sulfeto [39]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
S(-)-3-acetoxiundec-5-enil tioacetato [40]	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Havaí	MOORE; MISTYS YN; PETTUS, 1972
1-mercapto-4-undecen-3-ona [41]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
S-(E)-(3-oxoundec-4-enil) tioacetato [42]	<i>D. plagiogramma</i>	Havaí	ROLLER; AU; MOORE, 1971
bis-(3-oxoundecil) dissulfeto [43]	<i>D. polypodioides</i>	Gerolimenas (Grécia)	DIMOU et al., 2016
	<i>D. plagiogramma</i> <i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Havaí	ROLLER; AU; MOORE, 1971 MOORE; MISTYS YN; PETTUS, 1972
bis(5-metiltio-3-oxo-undecil) dissulfeto [44]	<i>D. polypodioides</i>	Gerolimenas (Grécia)	DIMOU et al., 2016
5-metiltio-1-(3-oxoundecil) dissulfanilundecan-3-ona [45]	<i>D. polypodioides</i>	Gerolimenas (Grécia)	DIMOU et al., 2016
(-)-bis-(3-acetoxiundec-5-enil) dissulfeto [46]	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Havaí	MOORE; MISTYS YN; PETTUS, 1972
bis(E)-(3-oxo-undec-4-enil) dissulfeto [47]	<i>D. polypodioides</i>	Gerolimenas (Grécia)	DIMOU et al., 2016
(E)-1-(3-oxo-undecil)-dissulfanilundec-4-en-3-ona [48]	<i>D. polypodioides</i>	Gerolimenas (Grécia)	DIMOU et al., 2016
(E)-1-(5-metiltio-3-oxo-undecil)dissulfanilundec-4-en-3-ona [49]	<i>D. polypodioides</i>	Gerolimenas (Grécia)	DIMOU et al., 2016
5-hidroxítio-1-(3-oxo-undecil)-dissulfanilundecan-3-ona [50]	<i>D. polypodioides</i>	Gerolimenas (Grécia)	DIMOU et al., 2016
bis-(3-oxoundecil) trissulfeto [51]	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Havaí	MOORE, 1971
bis-(3-oxoundecil) tetrassulfeto [52]	<i>D. plagiogramma</i> e <i>D. australis</i> (mistura)	Havaí	MOORE, 1971

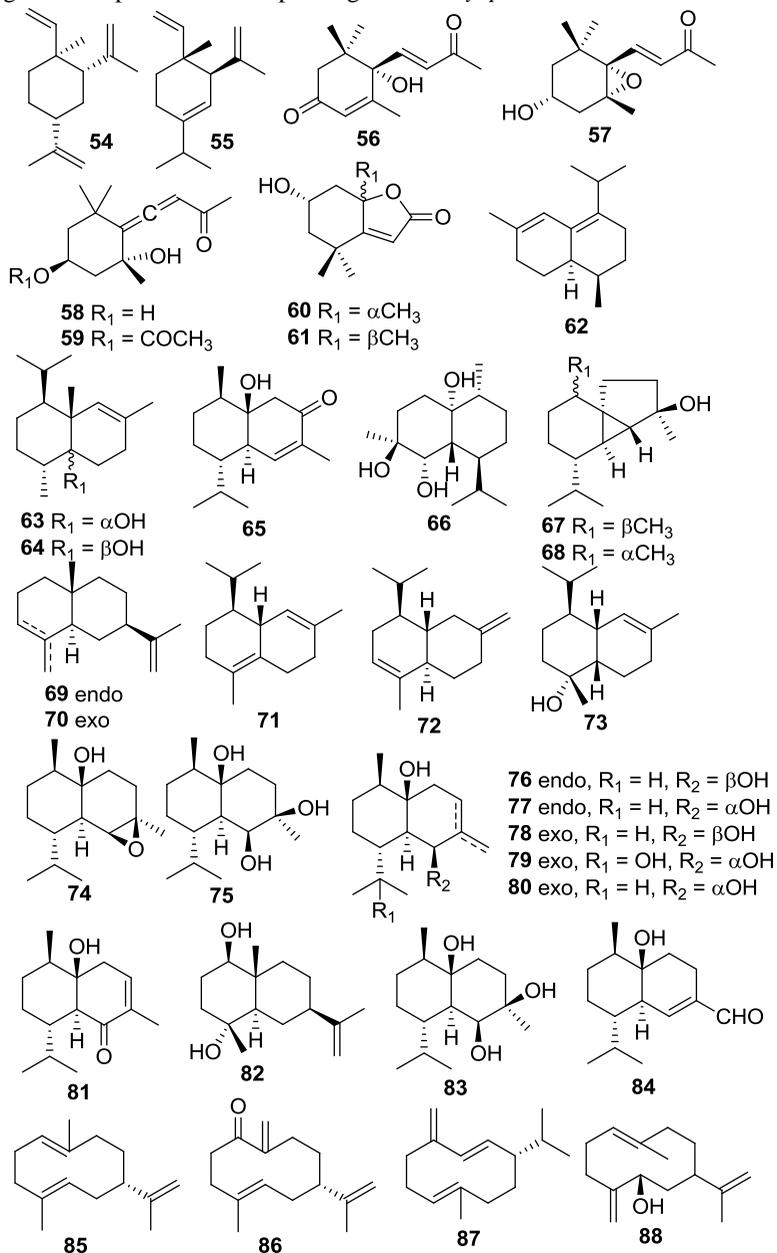
Quadro 2. Compostos contendo enxofre relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
3-hexil-4,5-ditiacicloheptanona [53]	<i>D. polyodioides</i>	Carolina do Norte (EUA)	SCHNITZLER et al., 2001
	<i>D. polyodioides</i>	Villefranche-sur-mer (França)	SCHNITZLER; BOLAND; HAY, 1998
	<i>D. polyodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
	<i>D. polyodioides</i>	Gerolimenas (Grécia)	DIMOU et al., 2016
	<i>D. polyodioides</i>	Gerolimenas (Grécia)	DIMOU et al., 2016

### 1.5.1.3 Terpenos

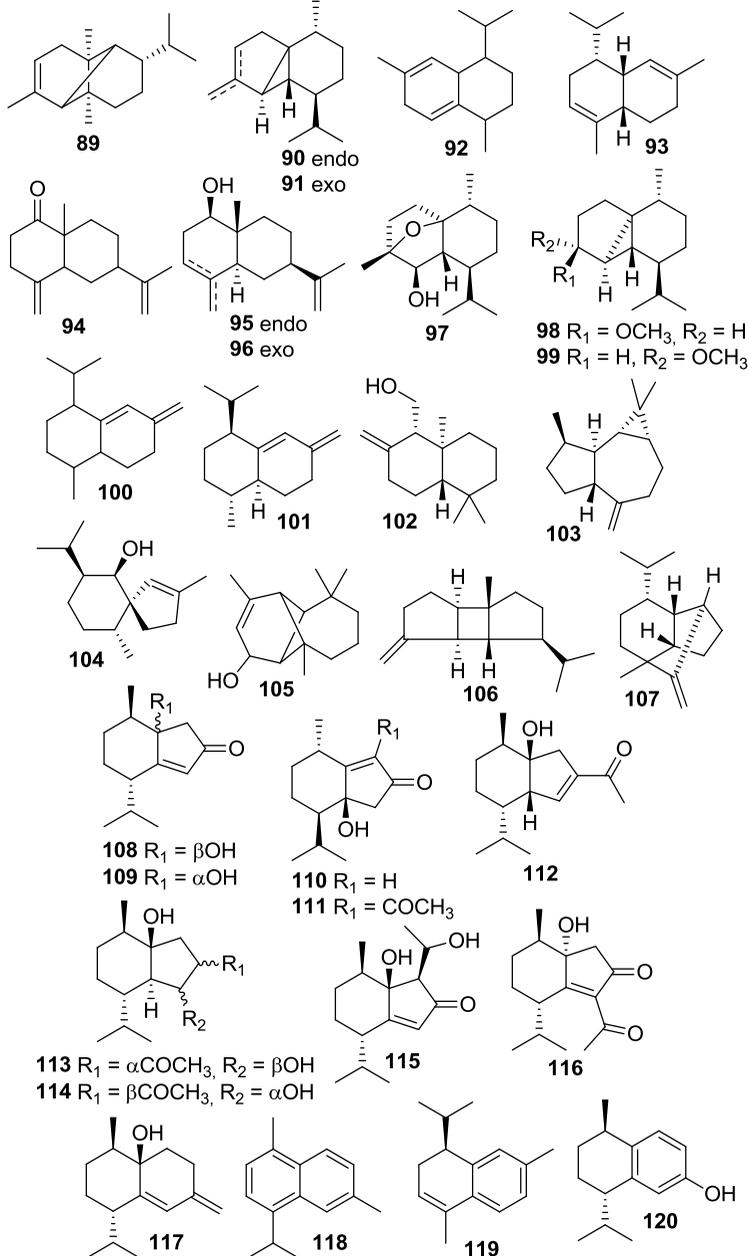
Apesar da presença marcante de compostos do tipo C<sub>11</sub> de origem não terpenica em algumas espécies, foram identificados e/ou isolados também muitos terpenos, majoritariamente sesquiterpenos. Os sesquiterpenos encontrados no gênero *Dictyopteris* pertencem a duas classes principais, podendo ser provenientes de uma origem biossintética mista (classe II – meroditerpenos) ou não (classe I). A classe de meroditerpenos é encontrada principalmente em *D. undulata* e será discutida no tópico seguinte (FLEURY et al., 1989).

Até o momento 71 terpenos (desconsiderando os meroditerpenos) foram reportados para o gênero *Dictyopteris* [54-124] (Figura 5 e Quadro 3), muitos deles produzidos por *D. divaricata* (Okamura) Okamura. Dentre estes, um total de oito monoterpenos [54-61], 59 sesquiterpenos [62-120] e quatro diterpenos [121-124] foram relatados. De acordo com Fleury e colaboradores (1989), a origem biossintética destes sesquiterpenos está relacionada a uma ciclização 1,10 de t,t-farnesol, levando a um intermediário de tipo germacrano que fornece (por uma sequência de etapas de transciclização, ou através de um rearranjo de Cope) os esqueletos de cadinano, copaano, cubebano, selinano e elemmano.

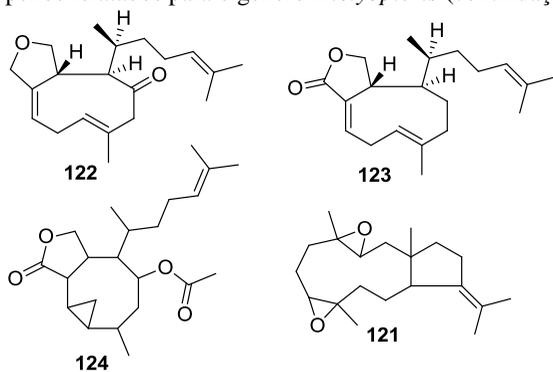
Figura 5. Terpenos relacionados para o gênero *Dictyopteris*.

Fonte: A autora (baseada na literatura).

Figura 5. Terpenos relacionados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).



Fonte: A autora (baseada na literatura).

Figura 5. Terpenos relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Fonte: A autora (baseada na literatura).

Quadro 3. Terpenos relatados para o gênero *Dictyopteris*.

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
$\beta$ -elemeno [54]	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	IRIE; YAMAMOTO; MASAMUNE, 1964
	<i>D. divaricata</i>	Muroran, Hikoshima (Japão)	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
$\delta$ -elemeno [55]	<i>D. latiscula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
Dehidrovomifoliol [56]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005a
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	XU et al., 2012
3 $\beta$ -hidroxi-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxi-7-megastigmen-9-ona [57]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005a
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	XU et al., 2012
(3 <i>R</i> )-4-[(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i> )-2-hidroxi-2,6,6-trimetilciclohexilidene]-3-buten-2-oneol [58]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	XU et al., 2012
(3 <i>R</i> )-4-[(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i> )-4-acetoxi-2-hidroxi-2,6,6-trimetilciclohexilidena]-3-buten-2-ona [59]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	XU et al., 2012
Loliolida [60]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005a
	<i>D. plagiogramma</i>	Arquipélago de Fernando de Noronha (Brasil)	FERREIRA et al., 2012
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	XU et al., 2012
Isololiolida [61]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005a
	<i>D. plagiogramma</i>	Arquipélago de Fernando de Noronha (Brasil)	FERREIRA et al., 2012
Zonareno [62]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	XU et al., 2012
	<i>D. zonarioides</i>	Puerto peñasco (México)	FENICAL et al., 1972
	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
	<i>D. latiscula</i>	Hikoshima (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001

Quadro 3. Terpenos relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
Cubenol [63]	<i>D. delicatula</i>	Florence (Austrália)	KONIG et al., 1995
	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	QIAO et al., 2009
	<i>D. divaricata</i>	Muroran, Hikoshima (Japão)	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	SUZUKI; KOWATA; KUROSAWA, 1981
	<i>D. prolifera</i>	Yoshimo (Japão)	FUJIMURA et al., 1994
	<i>D. prolifera</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
Epicubenol [64]	<i>D. undulata</i>	Japão	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	SUZUKI; KOWATA; KUROSAWA, 1981
Epicubenol [64]	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	Cubenol-3-ona [65]	<i>D. delicatula</i>	Florence (Austrália)
<i>D. divaricata</i>		Yantai (China)	QIAO et al., 2009
4 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroxicubenol [66]	<i>D. delicatula</i>	Florence (Austrália)	KONIG et al., 1995
	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	QIAO et al., 2009
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005a
	<i>D. divaricata</i>	N.I.	SONG et al., 2006a
Epicubebol [67]	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	SUZUKI; KOWATA; KUROSAWA, 1981
1,10-di-epi-cubebol [68]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
$\alpha$ -selineno [69]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	JI et al., 2009
$\beta$ -selineno [70]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	JI et al., 2009
$\delta$ -cadineno [71]	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	SUZUKI; KOWATA; KUROSAWA, 1981
	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. divaricata</i>	Funka (Japão)	KAJIWARA; KODAMA; HATANAKA, 1980
	<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	KAJIWARA; KODAMA; HATANAKA, 1980
$\gamma$ -cadineno [72]	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	IRIE; YAMAMOTO; MASAMUNE, 1964
$\delta$ -cadinol [73] (torreiol)	<i>D. delicatula</i>	Baía Florence (Austrália)	KÖNIG; WRIGHT, 1995
	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	QIAO et al., 2009
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005a
	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	IRIE; YAMAMOTO; MASAMUNE, 1964
	<i>D. divaricata</i>	N.I.	SONG et al., 2006a

Quadro 3. Terpenos relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoxicadinan-1 $\beta$ -ol [74]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	QIAO et al., 2009
Cadinan-1,4,5-triol [75]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	QIAO et al., 2009
Cadinan-3-eno-1,5-diol [76]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	QIAO et al., 2009
(+)-(1R,5R,6R,7S,10R)-cadinan-3-eno-1,5-diol [77]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
(+)-(1R,5S,6R,7S,10R)-cadinan-4(11)-eno-1,5-diol [78]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	JI et al., 2016
(+)-(1R,5R,6R,7R,10R)-cadinan-4(11)-eno-1,5,12-triol [79]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
cadinan-4(15)-eno-1 $\beta$ ,5 $\alpha$ -diol [80]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	JI et al., 2016
(-)-(1R,6S,7S,10R)-1-hidroxicadinan-3-en-5-ona [81]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
cyperusol C 7 [82]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	JI et al., 2009.
(-)-(1R,4R,5S,6R,7S,10R)-cadinan-1,4,5-triol [83]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
(-)-(1R,6R,7S,10R)-11-oxocadinan-4-en-1-ol [84]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
Germacreno A [85]	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	SEGAWA; YAMANO; SHIRAHAMA, 1990
(7S)-(E)-7-isopropenil-4-metil-1O-metileno-4-ciclododecen-1-ona [86]	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	SEGAWA; YAMANO; SHIRAHAMA, 1990
Germacreno D [87]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
	<i>D. divaricata</i>	Murooran, Hikoshima (Japão)	KAJIWARA et al., 1989
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
(E,5S,7S)-germacra-1(10),4(15),11-trien-5-ol [88]	<i>D. divaricata</i>	N.I.	SUZUKI et al., 1990
$\alpha$ -copaeno [89]	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	IRIE; YAMAMOTO; MASAMUNE, 1964
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
	<i>D. divaricata</i>	Baía de Funka (Japão)	KAJIWARA; KODAMA; HATANAKA, 1980
	<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	KAJIWARA; KODAMA; HATANAKA, 1980

Quadro 3. Terpenos relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
$\alpha$ -cubebeno [90]	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	SUZUKI; KOWATA; KUROSAWA, 1981
	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
	<i>D. sp.</i>	Susa (Japão)	YAMAMOTO et al., 2001
$\beta$ -cubebeno [91]	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	SUZUKI; KOWATA; KUROSAWA, 1981
	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
	<i>D. divaricata</i>	Funka (Japão)	KAJIWARA; KODAMA; HATANAKA, 1980
	<i>D. undulata</i>	Yoshimo (Japão)	KAJIWARA; KODAMA; HATANAKA, 1980
1,2,3,4,4a,7-hexahidro- 1,6-dimetil-4-(1- metiletil)naftaleno [92]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
$\alpha$ -amorfenol [93]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
Dictiopterona [94]	<i>D. divaricata</i>	N.I.	KUROSAWA et al., 1966
$\alpha$ -dictiopterol [95]	<i>D. divaricata</i>	N.I.	KUROSAWA et al., 1966
$\beta$ -dictiopterol [96]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	JI et al., 2009
	<i>D. divaricata</i>		KUROSAWA et al., 1966
1,4-epoximurolan-5 $\beta$ -ol [97]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	JI et al., 2009
[98]	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	SUZUKI; KOWATA; KUROSAWA, 1981
[99]	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	SUZUKI; KOWATA; KUROSAWA, 1981
4,4a,5,6,7,8-hexahidro-5- metil-8-(1-metiletil)- 2(3H)naftalenona [100]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
epi-biciclo sesquifelandreno [101]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
Albicanol [102]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
Aromadendreno [103]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
Axenol [104]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
Vulgarol B [105]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
$\beta$ -Bourboneno [106]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
Sativeno [107]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b

Quadro 3. Terpenos relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
(+)-(1 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,9 <i>R</i> )-1-hidroxil-6-isopropil-9-metilbicyclo[4.3.0]non-4-en-3-ona [108]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005b
(-)-(1 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,9 <i>R</i> )-1-hidroxil-6-isopropil-9-metilbicyclo[4.3.0]non-4-en-3-ona [109]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005b
(+)-(5 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,9 <i>S</i> )-5-hidroxil-6-isopropil-9-metilbicyclo[4.3.0]non-1-en-3-ona [110]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005b
(-)-(5 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,9 <i>S</i> )-2-acetil-5-hidroxil-6-isopropil-9-metilbicyclo[4.3.0]non-1-en-3-ona [111]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2006b
(+)-(1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,9 <i>R</i> )-3-acetil-1-hidroxil-6-isopropil-9-metilbicyclo[4.3.0]non-3-ena [112]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2006b
(+)-(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,9 <i>R</i> )-3-acetil-1,4-dihidroxil-6-isopropil-9-metilbicyclo[4.3.0]nonana [113]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2006b
(+)-(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,9 <i>R</i> )-3-acetil-1,4-diidroxil-6-isopropil-9-metilbicyclo-[4.3.0]nonana [114]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2006b
(+)-(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,9 <i>R</i> )-1-hidroxil-2-(1-hidroxietil)-6-isopropil-9-metilbicyclo[4.3.0]non-4-en-3-ona [115]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2006b
(-)-(1 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,9 <i>R</i> )-4-acetil-1-hidroxil-6-isopropil-9-metilbicyclo[4.3.0]non-4-en-3-ona [116]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2006b
(-)-(1 <i>R</i> ,7 <i>S</i> ,10 <i>R</i> )-1-hidroxil-11-norcadinan-5-en-4-ona [117]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005b
Cadaleno [118]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	JI et al., 2009
	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	IRIE; YAMAMOTO; MASAMUNE, 1964
$\alpha$ -calacoreno [119]	<i>D. polypodioides</i>	Tipaza (Argélia)	HATTAB et al., 2007b
<i>E</i> -3-norisocalamenen-4-ol [120]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	JI et al., 2016
(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,1 <i>R</i> )-3,4,7,8-bisepoxidolabellan-12(18)-eno [121]	<i>D. delicatula</i>	Baía de Geoffrey (Austrália)	WRIGHT e COLL 1990

Quadro 3. Terpenos relatados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
18,19-epoxixenic-4-ona-6,9,13-trieno [122]	<i>D. polypodioides</i>	Costa do Mediterrâneo (Egito)	ABOUTABL et al., 2010
Dictiolactona [123]	<i>D. polypodioides</i>	Costa do Mediterrâneo (Egito)	ABOUTABL et al., 2010
4-acetoxicrenulida [124]	<i>D. polypodioides</i>	Costa do Mediterrâneo (Egito)	ABOUTABL et al., 2010

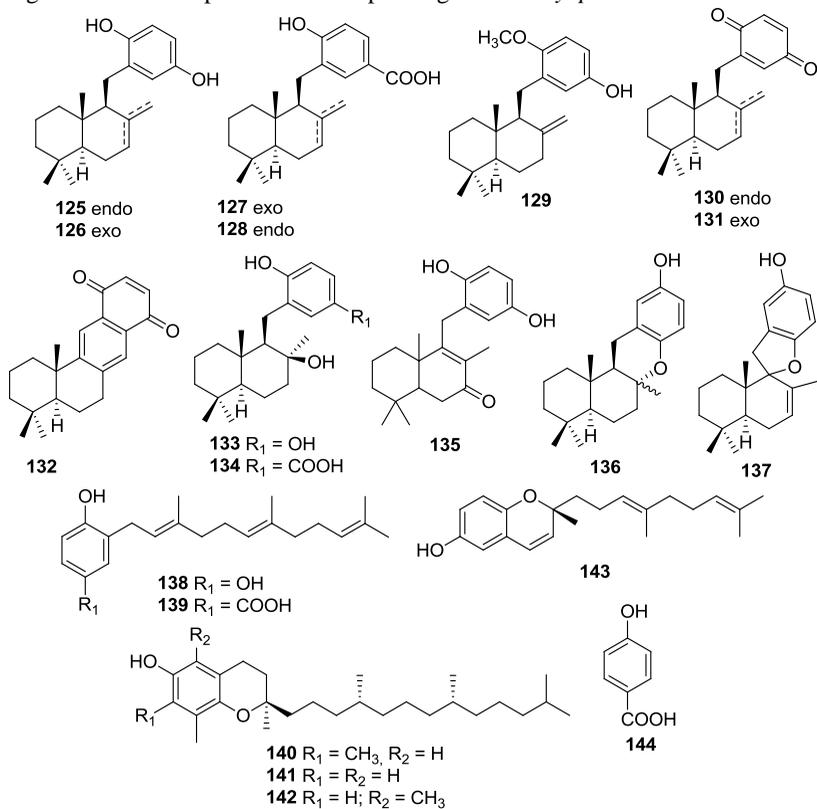
#### 1.5.1.4 Meroditerpenos

Os meroditerpenos consistem em uma parte terpênica com estrutura linear ou cíclica e uma parte aromática, muitas vezes constituída por quinonas ou derivados. Estes compostos são encontrados principalmente em organismos marinhos, predominantemente em esponjas e algas pardas (SARIN et al., 1987; LUCAS et al., 2003; LAIRD et al., 2007; KITA; SHIOMI; OMURA, 2007). Dezenove desses compostos foram encontrados em *Dictyopteris* [125-144] (Figura 6 e Quadro 4), produzidos principalmente por *D. undulata* a partir do acoplamento de um precursor do tipo farneseno a uma fração de p-hidroquinona ou ácido p-hidroxibenzóico, com ou sem ciclização adicional, originando um drimano substituído ou sesquiterpeno farneseno (FLEURY, 1989).

Os primeiros a serem isolados foram zonarol [126] e isozonarol [125] que apresentaram atividade antifúngica (FENICAL; SIMS, 1973), seguindo-se as quinonas correspondentes, zonarona [131] e isozonarona [130] (DAVE et al., 1984).

Um possível precursor para a série de compostos fenólicos citados anteriormente, denominado de 2-geranil-hidroquinona [138], foi isolado de *D. undulata* e apresentou moderada atividade antibacteriana (OCHI et al., 1979a).

Figura 6. Meroditerpenos relatados para o gênero *Dictyopteris*.



Fonte: A autora (baseada na literatura).

Quadro 4. Meroditerpenos relatados para o gênero *Dictyopteris*.

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
Isozonarol [125]	<i>D. undulata</i>	Santa Catalina (EUA)	JOSHI BIPIN; KAZAOKA; TRISCHMAN JACQUELINE, 2012
	<i>D. undulata</i>	Nagasaki (Japão)	ISHIBASHI et al., 2013
	<i>D. undulata</i>	Akita (Japão)	KURATA; TANIGUCHI; SUZUKI, 1996
	<i>D. undulata</i>	Izu-Shimoda (Japão)	DAVE et al., 1984
	<i>D. undulata</i>	Tóquio (Japão)	KUMAGAI et al., 2018
	<i>D. zonarioides</i>	San Diego (EUA)	FENICAL; SIMS, 1973
Zonarol [126]	<i>D. undulata</i>	Proximidades de Shizuoka e Kanagawa (Japão)	YAMADA et al., 2014
	<i>D. undulata</i>	Nagasaki (Japão)	ISHIBASHI et al., 2013
	<i>D. undulata</i>	Akita (Japão)	KURATA; TANIGUCHI; SUZUKI, 1996
	<i>D. undulata</i>	Santa Catalina (EUA)	JOSHI BIPIN; KAZAOKA; TRISCHMAN JACQUELINE, 2012
	<i>D. undulata</i>	Izu-Shimoda (Japão)	DAVE et al., 1984
	<i>D. zonarioides</i>	Golfo da Califórnia (México)	FENICAL; SIMS, 1973
Ácido zonaróico [127]	<i>D. undulata</i>	N.I.	CIMINO et al., 1975
	<i>D. undulata</i>	Izu-Shimoda (Japão)	DAVE et al., 1984
	<i>D. undulata</i>	Nagasaki (Japão)	ISHIBASHI et al., 2013
	<i>D. undulata</i>	Tóquio (Japão)	KUMAGAI et al., 2018
Ácido isozonaróico [128]	<i>D. undulata</i>	Tóquio (Japão)	KUMAGAI et al., 2018
[129]	<i>D. undulata</i>	Santa Catalina (EUA)	JOSHI BIPIN; KAZAOKA; TRISCHMAN JACQUELINE, 2012
Isozonarona [130]	<i>D. undulata</i>	Akita (Japão)	KURATA; TANIGUCHI; SUZUKI, 1996
	<i>D. undulata</i>	Izu-Shimoda (Japão)	DAVE et al., 1984
	<i>D. undulata</i>	Tóquio (Japão)	KUMAGAI et al., 2018
Zonarona [131]	<i>D. undulata</i>	Akita (Japão)	KURATA; TANIGUCHI; SUZUKI, 1996
	<i>D. undulata</i>	Izu-Shimoda (Japão)	DAVE et al., 1984
Ciclozonarona [132]	<i>D. undulata</i>	Akita (Japão)	KURATA; TANIGUCHI; SUZUKI, 1996
Yahazunol [133]	<i>D. undulata</i>	Tosa (Japão)	OCHI et al., 1979b
	<i>D. undulata</i>	Nagasaki (Japão)	ISHIBASHI et al., 2013
	<i>D. undulata</i>	Santa Catalina (EUA)	JOSHI BIPIN; KAZAOKA; TRISCHMAN JACQUELINE, 2012

Quadro 4. Meroditerpenos relacionados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

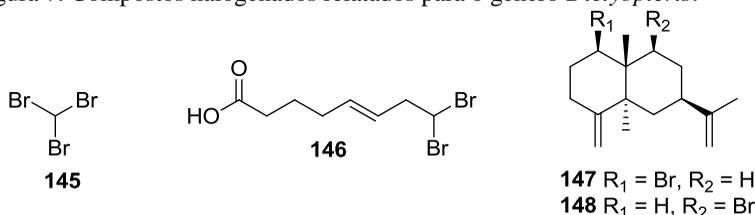
Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
Ácido dictivárico [134]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005a
Ácido 4-hidroxibenzoico [135]	<i>D. divaricata</i>	N.I.	SONG et al., 2006a
Cromazonarol [136]	<i>D. undulata</i>	N.I.	FENICAL; McCONNELL, 1975
	<i>D. undulata</i>	Nagasaki (Japão)	ISHIBASHI et al., 2013
	<i>D. undulata</i>	Akita (Japão)	KURATA; TANIGUCHI; SUZUKI, 1996
	<i>D. undulata</i>	Tóquio (Japão)	KUMAGAI et al., 2018
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
	<i>D. undulata</i>	Izu-Shimoda (Japão)	DAVE et al., 1984
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005a
Isocromazonarol [137]	<i>D. divaricata</i>	N.I.	SONG et al., 2006a
	<i>D. undulata</i>	N.I.	FENICAL; McCONNELL, 1975
	<i>D. undulata</i>	Izu-Shimoda (Japão)	DAVE et al., 1984
2-geranil-hidroquinona [138]	<i>D. undulata</i>	Nagasaki (Japão)	ISHIBASHI et al., 2013
	<i>D. undulata</i>	Tosa (Japão)	OCHI et al., 1979a
Ácido 3-farnesil-p-hidroxibenzoico [139]	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005a
	<i>D. divaricata</i>	Oshoro (Japão)	SEGAWA; YAMANO; SHIRAHAMA, 1990
	<i>D. divaricata</i>	N.I.	SONG et al., 2006a
γ-tocoferol [140]	<i>D. polyodioides</i>	Gerolimenas (Grécia)	DIMOU et al., 2016
δ-tocoferol [141]	<i>D. polyodioides</i>	Gerolimenas (Grécia)	DIMOU et al., 2016
α-tocoferol [142]	<i>D. delicatula</i>	Trairi (Ceará)	SOUSA et al., 2008
Cromenol (dictiocromenol) [143]	<i>D. undulata</i>	Izu-Shimoda (Japão)	DAVE et al., 1984
Ácido 4-hidroxibenzoico [144]	<i>D. divaricata</i>	N.I.	SONG et al., 2006a

### 1.5.1.5 Compostos halogenados

Apesar de compostos halogenados serem incomuns em algas pardas, fato que pode ser explicado, em parte, devido a baixa atividade da bromoperoxidase (MOORE et al., 1996), alguns destes compostos foram relatados para o gênero *Dictyopteris* (Figura 7 e Quadro 5). Os

primeiros compostos halogenados foram identificados no óleo essencial da espécie *D. polypodioides* coletada na costa da Inglaterra, sendo eles o bromofórmio [145] e o ácido 8,8-dibromo-5-octenoico [146]. Mais recentemente, outros compostos bromados foram isolados da espécie *D. divaricata* coletada na costa da China. Os compostos [147] e [148] foram considerados novos sesquiterpenos de esqueleto selinano bromados e, segundo os autores, através da comparação com outros compostos de estrutura relacionada, é possível que atuem como mecanismo de defesa química contra herbívoros marinhos (JI et al., 2009).

Figura 7. Compostos halogenados relatados para o gênero *Dictyopteris*.



Fonte: A autora (baseada na literatura).

Quadro 5. Compostos halogenados relatados para o gênero *Dictyopteris*.

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
Bromofórmio [145]	<i>D. polypodioides</i>	Quiberon (França)	HATTAB et al., 2002
Ácido 8,8-dibromo-5-octenoico [146]	<i>D. polypodioides</i>	Quiberon (França)	HATTAB et al., 2002
1-bromoselin-4(14),11-dieno [147]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	JI et al., 2009
9-bromoselin-4(14),11-dieno [148]	<i>D. divaricata</i>	Yantai (China)	JI et al., 2009

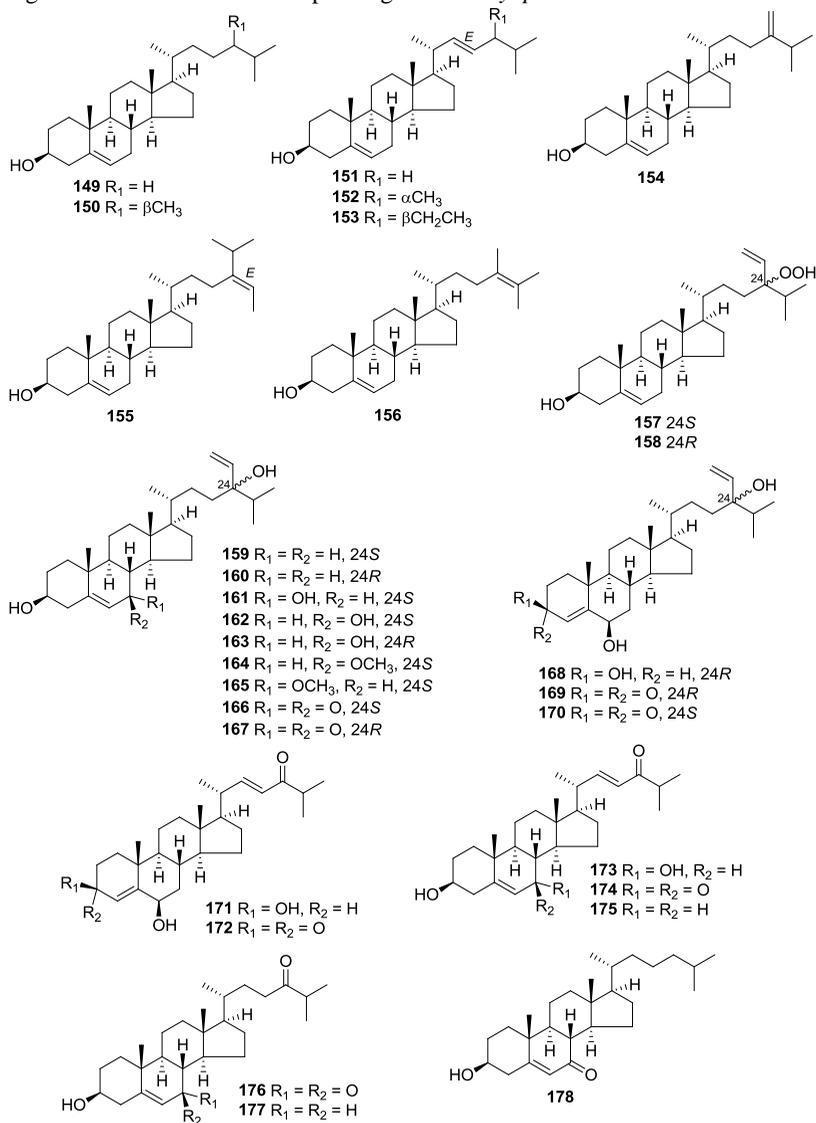
### 1.5.1.6 Esteroides

Os esteroides, considerados constituintes de membranas, foram reportados para espécies de *Dictyopteris* [149-178] (Figura 8 e Quadro 6). Embora o fucosterol [155] seja considerado o esteroide mais comum em algas pardas, o colesterol [149] pode ser encontrado como esteroide dominante em algumas espécies de *Dictyopteris* (FLEURY et al., 1994b).

Como mencionado, a função principal dos esteroides em qualquer organismo é a manutenção da estrutura e da fluidez das membranas celulares. Contudo, sua função ecológica permanece incerta.

O isolamento de uma mistura de dois hidroperóxidos 24*S* [158] e 24*R* [159] de 24-hidroxiperoxi-24-vinilcolesterol de *D. justii* pode sugerir uma possível função na defesa contra a herbivoria, já que estes compostos inibiram a herbivoria pelo caranguejo *P. transversus* (TEIXEIRA et al., 2006).

Recentemente, dez novos esteroides do tipo estigmastano contendo uma cadeia lateral  $\Delta^{28}$ -24-hidroxi incomum foram isolados de *D. undulata*, denominados de dictiopterisinas [160-169], incluindo três pares de epímeros em C-24. Alguns destes compostos apresentaram significativa atividade na inibição da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B), bem como atividade citotóxica frente às linhagens celulares HL-60 (leucemia promielocítica humana) e A-549 (carcinoma de pulmão humano) (FENG et al., 2018). Em outro trabalho também recente, estes autores reportam o isolamento de três novos esteroides do tipo colestano com cadeia lateral  $\Delta^{22}$ -24-oxo, denominados de dictyoptesteróis [170-172], além de outros cinco análogos [173-178]. Da mesma forma, alguns destes compostos apresentaram atividade promissora sobre a inibição da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B) (YANG et al., 2018).

Figura 8. Esteroides relacionados para o gênero *Dictyopteris*.

Fonte: A autora (baseada na literatura).

Quadro 6. Esteroides relatados para o gênero *Dictyopteris*.

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
Colesterol [149]	<i>D. delicatula</i>	Búzios (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
	<i>D. polypodioides</i>	Catania (Itália)	AMICO et al., 1976
	<i>D. plagiogramma</i>	Mangaratiba (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
Campesterol [150]	<i>D. delicatula</i>	Búzios (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
	<i>D. plagiogramma</i>	Mangaratiba (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
22,23-dideidrocolesterol [151]	<i>D. delicatula</i>	Búzios (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
	<i>D. plagiogramma</i>	Mangaratiba (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
Brassicasterol [152]	<i>D. delicatula</i>	Búzios (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
	<i>D. plagiogramma</i>	Mangaratiba (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
Estigmasterol [153]	<i>D. delicatula</i>	Búzios (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
	<i>D. plagiogramma</i>	Mangaratiba (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
Chalinasterol [154]	<i>D. delicatula</i>	Búzios (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
	<i>D. divaricata</i>	Muroran (Japão)	IKEKAWA et al., 1968
	<i>D. polypodioides</i>	Catania (Itália)	AMICO et al., 1976
	<i>D. plagiogramma</i>	Mangaratiba (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
Fucosterol [155]	<i>D. delicatula</i>	Búzios (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2004
	<i>D. divaricata</i>	Qingdao (China)	SONG et al., 2005a
	<i>D. divaricata</i>	Muroran (Japão)	IKEKAWA et al., 1968
	<i>D. divaricata</i>	N.I.	SONG et al., 2006a
	<i>D. polypodioides</i>	Catania (Itália)	AMICO et al., 1976
	<i>D. polypodioides</i>	N.I.	GUVEN; KIZIL, 1983
	<i>D. plagiogramma</i>	Mangaratiba (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
24-metildesmosterol [156]	<i>D. delicatula</i>	Búzios (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
	<i>D. plagiogramma</i>	Mangaratiba (Brasil)	FLEURY et al., 1994b
24S-hidroperoxi-24-vinilcolesterol [157]	<i>D. justii</i>	Fernando de Noronha (Brasil)	TEIXEIRA et al., 2006
	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
24R-hidroperoxi-24-vinilcolesterol [158]	<i>D. justii</i>	Fernando de Noronha (Brasil)	TEIXEIRA et al., 2006
	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
24S-saringosterol [159]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
24R-saringosterol [160]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
Dictyopterisin A [161]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
Dictyopterisin B [162]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
Dictyopterisin C [163]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
Dictyopterisin D [164]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
Dictyopterisin E [165]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
Dictyopterisin F [166]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
Dictyopterisin G [167]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
Dictyopterisin H [168]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
Dictyopterisin I [169]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
Dictyopterisin J [170]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	FENG et al., 2018
Dictyoptesterol A [171]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	YANG et al., 2018
Dictyoptesterol B [172]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	YANG et al., 2018
Dictyoptesterol C [173]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	YANG et al., 2018
(22E)-3 $\beta$ -hidroxicolesta-5,22-dien-7,24-diona [174]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	YANG et al., 2018

Quadro 6. Esteroides relacionados para o gênero *Dictyopteris* (continuação).

Composto	Espécie	Local de coleta	Referência
(22E)-3 $\beta$ -hidroxicolesta-5,22-dien-24-ona [175]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	YANG et al., 2018
3 $\beta$ -hidroxicolesta-5-ene-7,24-diona [176]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	YANG et al., 2018
24-oxocolesterol [177]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	YANG et al., 2018
7-oxocolesterol [178]	<i>D. undulata</i>	Zhanjiang (China)	YANG et al., 2018

### 1.5.2 Atividades biológicas relacionadas para o gênero *Dictyopteris*

Diversas atividades foram avaliadas para extratos, frações e também compostos isolados de espécies do gênero *Dictyopteris*. De maneira geral, destacam-se as atividades antimicrobiana e citotóxica, com maior número de relatos e resultados promissores, além da atividade anti-inflamatória, antioxidante e anticoagulante. A seguir será apresentada uma abordagem geral sobre estas atividades, sendo que uma análise mais aprofundada sobre o tema será feita no item Resultados e Discussão, correlacionando-se com os resultados obtidos nesta tese.

#### 1.5.2.1 Antimicrobiana, antiviral e larvicida

Diversas espécies analisadas apresentaram atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos patogênicos para o ser humano. Nesse sentido, atividade antibacteriana significativa foi obtida para o extrato aquoso de *D. polypodioides* contra *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* (AOUN; SAID; FARHAT, 2010), bem como dos extratos apolares (hexânico e clorofórmico) contra diversas cepas de bactérias Gram-positivas e negativas, e *Candida albicans* (OZDEMIR et al., 2006). Diferentes extratos de *D. polypodioides* coletada em Abo-Kir, Alexandria, Egito, incluindo EtOH, éter de petróleo, CHCl<sub>3</sub> e AcOEt apresentam atividade antimicrobiana contra bactérias Gram positivas, negativas e fungos (ABOUTABL et al., 2010). Outros estudos também demonstraram o potencial antibacteriano e antifúngico de extratos orgânicos de *D. polypodioides* coletada nas Ilhas Canárias, Marrocos, Líbia e Turquia contra patógenos humanos (GONZÁLEZ DEL VAL et al., 2001; CHIHEB et al., 2009; ALGHAZEER et al., 2013a, ALGHAZEER et al., 2013b, TÜNEY et al., 2006; TÜNEY et al., 2007; KHALLIL; DAGHMAN; FADY, 2015).

Os extratos aquosos de *D. deliculata* e *D. justii* também apresentaram atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas,

negativas e fungos (BURKHOLDER; BURKHOLDER; ALMODÓVAR, 1960). Em estudos posteriores, o extrato etanólico de *D. delicatula* apresentou atividade frente a *S. aureus* e *S. pyogenes* (PEREZ et al., 1990), enquanto o extrato CHCl<sub>3</sub>:MeOH (2:1) de *D. justii* coletada no Caribe apresentou atividade contra *B. subtilis* (BALLANTINE et al., 1987).

Resultados promissores foram observados para o extrato MeOH de *D. undulata* coletada no Japão, que apresentou potente atividade antibacteriana contra diversas cepas de MRSA (com CIM variando de 7,81 a 62,5 µg/mL) (HORIKAWA; NORO; KAMEI, 1999). Atividade antibacteriana contra *Mycobacterium marinum* foi observada para o extrato CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de *D. undulata*, a qual levou ao isolamento bioguiado dos compostos **125**, **126**, **128** e **132** (JOSHI BIPIN; KAZAOKA; TRISCHMAN JACQUELINE, 2012). Outro estudo apontou atividade do extrato MeOH 70 % contra bactérias encontradas em alimentos, como *Salmonella choleraesuis*, *Bacillus cereus*, *S. aureus* and *Listeria monocytogenes* (JANG; LEE, 2015).

O extrato MeOH de *D. australis* coletada no Paquistão apresentou também atividade antimicrobiana, com importantes resultados sobre *S. aureus*, *S. citreus*, *Sarcina lutea*, *Salmonella dublin* e *Candida tropicalis*. O extrato MeOH:tolueno (3:1) e EtOH de *D. latiuscula* (Okamura) Okamura, coletada em Fujian, China, apresentou fraca atividade antibacteriana contra *E. coli* e *P. aeruginosa* e nenhuma atividade contra os fungos analisados (ZHENG; CHEN; LU, 2001).

Atividade menos significativa também foi observada para o extrato EtOH de *D. longifolia* Papenfuss contra diversas cepas Gram-positivas e negativas (VLACHOS; CRITCHLEY; HOLY, 1997; VLACHOS; CRITCHLEY; HOLY, 1999).

Os extratos CHCl<sub>2</sub>:MeOH (2:1) de *D. jolyana* e *D. delicatula* coletadas em Cabo Branco (Paraíba) e Praia da Barra (Baía) não apresentaram atividade antimicrobiana, antiprotozoária (*Leishmania braziliensis* e *Trypanosoma cruzi*) e antiviral (Herpes Simplex tipo 1) BA (BIANCO et al., 2013a). Ainda neste sentido, foi relatada atividade larvicida do extrato CHCl<sub>2</sub>:MeOH (2:1) de *D. delicatula* coletada em Pernambuco contra larvas de *Aedes aegypti* (67 % de mortalidade em 500 ppm) (BIANCO et al., 2013b). Já o extrato CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (1:1) de *D. delicatula* coletada na praia Rasa (Rio de Janeiro) apresentou atividade antiviral contra o vírus *Herpes simplex* tipo 1 e 2 resistente ao aciclovir, não apresentando citotoxicidade contra células Vero (SOARES et al., 2012).

### 1.5.2.2 Citotóxica

Com relação à atividade citotóxica, resultados significativos foram observados para a fração AcOEt do extrato EtOH de *D. divaricata* frente a células CL-60 (leucemia promielocítica humana) (85,3 % de inibição a 100 µg/mL), e em menor escala contra células HT-29 (carcinoma de cólon humano), A-549 (carcinoma de pulmão humano) e B16F10 (melanoma murino) (KIM et al., 2009). Outros autores também descreveram potente atividade citotóxica do extrato hexano de *D. divaricata* frente a células KB (carcinoma epidermoide oral humano) ( $IC_{50} = 4,40$  µg/mL) (XU et al., 2004). Sobre esta mesma linhagem celular foi observada atividade citotóxica de extratos polares e orgânicos de *D. polyodioides*, a qual apresentou variação conforme a época de coleta do material (KOSOVEL et al., 1988). No entanto, *D. polyodioides* também apresentou atividade citotóxica frente a células normais de rim de macacos (CV-1) (BALLESTEROS; MARTÍN; URIZ, 1992).

Atividade citotóxica de maneira dose-dependente foi observada para o extrato etanólico de *D. undulata* coletada nas Ilhas Jeju, Coreia, sobre células SW-480 (adenocarcinoma de cólon) e A-2058 (células de melanoma), observando-se a indução de apoptose celular (KIM et al., 2014; KANG et al., 2014; KIM et al., 2015).

Os polissacarídeos fucoidanos isolados de *D. polyodioides* coletada na costa do Líbano apresentaram atividade antitumoral contra as células de melanoma humano (RPMI-7951), sendo capazes de inibir o crescimento de colônias celulares em 44 % na concentração testada de 200 µg/mL (SOKOLOVA et al., 2011).

Os extratos MeOH de *D. australis* e *D. delicatula* coletadas na Índia apresentaram potente atividade citotóxica de maneira dose-dependente no modelo de *Artemia salina* (VINAYAK et al., 2011).

Alguns esteroides isolados de *D. divaricata* coletada no Japão (dictyopterisins D-J [164-170]) apresentaram atividade citotóxica frente às linhagens celulares HL-60 (leucemia promielocítica humana) e A-549 (carcinoma de pulmão humano) (FENG et al., 2018).

### 1.5.2.3 Anti-inflamatória

Algas do gênero *Dictyopteris* também têm se mostrado como fonte de novos compostos com atividade anti-inflamatória. Neste

sentido, o extrato EtOH de *D. undulata* coletada nas Ilhas Jeju, Coreia, inibiu a produção de fatores pro-inflamatórios em células da linhagem celular murina de macrófagos RAW 264.7 ativados com LPS (lipopolissacarídeo) (KANG et al., 2012). Alguns anos antes, os compostos isolados desta espécie, **126** e **125**, já haviam apresentado atividade anti-inflamatória por meio da inibição da fosfolipase A<sub>2</sub>, com 52 e 76 % de inibição (5,0 µM), respectivamente (MAYER et al., 1993).

Resultados promissores *in vivo* foram observados para os extratos aquosos e orgânicos de *D. polypodioides* no modelo de edema de pata induzido por carragenina, comparáveis ao fármaco utilizado como controle (ácido acetilsalicílico) (AOUN; SAID; FARHAT, 2010). Utilizando o mesmo modelo, Aboutabl et al. (2010) também observaram potencial anti-inflamatório para diferentes extratos de *D. polypodioides* coletada no Egito, com destaque para os extratos CHCl<sub>3</sub>, EtOH e MeOH, sendo os valores de inibição de 84,8 %, 84,5 % e 82,8 %, respectivamente, na dose de 100 mg/kg.

Recentemente, os dissulfetos isolados de *D. polypodioides*, com destaque para **45** e **53**, foram capazes de reduzir a produção de NO (óxido nítrico) em macrófagos estimulados com LPS, com IC<sub>50</sub> de 3,8 µM e 14,2 µM, respectivamente. Ambos os compostos apresentaram atividade citostática em concentrações superiores (DIMOU et al., 2016).

Além disso, as frações acetato de etila de *D. divaricata* e *D. prolifera* apresentaram atividade anti-inflamatória *in vitro*, com inibição de mediadores pró-inflamatórios, como NO, prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), fator de necrose tumoral (TNF-α) e interleucina 6 (IL-6) em macrófagos (YANG et al., 2014). Estudo anterior também já havia demonstrado o potencial de inibição da produção de NO e PGE<sub>2</sub> de maneira dose dependente do extrato EtOH de *D. divaricata*. Tanto NO como PGE<sub>2</sub> são importantes mediadores na inflamação aguda e crônica (LEE et al., 2008).

#### 1.5.2.4 Antioxidante

As algas pardas em geral são conhecidas por apresentarem grande potencial antioxidante, relacionado principalmente à presença de compostos fenólicos (BALBOA et al., 2013). Dessa forma, vários ensaios foram realizados com espécies de *Dictyopteris*.

Os extratos CHCl<sub>3</sub> e EtOAc de *D. polypodioides* coletada na Tunísia apresentam atividade antioxidante no modelo de captação do radical livre DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-picril-hidrazila), com IC<sub>50</sub> de 0,089 e 0,11 mg/mL, respectivamente, equivalente ao controle positivo Trolox,

correlacionando-se este resultado ao conteúdo de compostos fenólicos (AOUN; SAID; FARHAT, 2010). O extrato  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de *D. polypodioides* coletada em Creta, Grécia, também apresentou atividade antioxidante nos modelos de captação dos radicais livres DDPH<sup>•</sup> e hidroxila (NAHAS et al., 2007). Adicionalmente, diferentes extratos de *D. polypodioides* coletada no Egito também apresentaram capacidade de captação do radical livre DPPH<sup>•</sup> (ABOUTABL et al., 2010) e recentemente Akremi e colaboradores (2017) demonstraram o alto conteúdo de compostos fenólicos, flavonoides e taninos nos extratos acetônico e etanólico de *D. polypodioides* coletada da Tunísia.

O extrato MeOH de *D. australis* e *D. delicatula* coletadas na Índia apresentaram atividade antioxidante com potente atividade quelante de ferro quando comparadas a outras algas pardas testadas (VINAYAK; SABU; CHATTERJI, 2011). A espécie *D. divaricata* coletada na Coreia e na China também apresentou potencial de captação de radicais livres, poder redutor, inibição da liberação de NO, proteção contra a oxidação do  $\beta$ -caroteno, bem como efeitos sobre a acumulação lipídica por meio a diminuição do dano oxidativo (KIM et al., 2008; LEE e KIM, 2015; LEE et al., 2011; ZHANG et al., 2007).

Diferentes extratos de *D. undulata* coletada na costa de Taiwan (LIN et al., 2012) e da Coreia (LEE e KIM, 2015; LEE et al., 2011) apresentaram atividade antioxidante, com inibição significativa da diferenciação de adipócitos e da produção de espécies reativas de oxigênio durante a diferenciação de pre-adipócitos 3T3-L1 (LEE et al., 2011). Tal efeito pode proteger contra o estresse oxidativo ligado a obesidade (LEE et al., 2011). O composto [126], isolado desta espécie, apresentou atividade neuroprotetora em células HT-22 (neurônios hipocámpais) com proteção contra o estresse oxidativo (SHIMIZU et al., 2015).

As espécies *D. prolifera* e *D. pacifica* (Yendo) I. K. Hwang, H. S. Kim & W. J. Lee, coletadas nas Ilhas Jeju, Coreia, apresentaram atividade antioxidante em diferentes modelos, porém os resultados não foram tão promissores como as espécies anteriormente descritas (LEE et al., 2011; LEE e KIM, 2015). Fraca atividade antioxidante também foi observada para a espécie *D. plagiogramma* coletada em Makai Pier, Oahu, Haváí (KELMAN et al., 2012).

#### 1.5.2.5 Outras atividades de interesse clínico

Outras atividades também foram destacadas, como a inibição da enzima  $\alpha$ -glicosidase pelo extrato orgânico de *D. divaricata* (62,78 % de

inibição a 79,6 µg/mL), a qual é um importante alvo para o tratamento de diabetes, hipercolesterolemia e obesidade (LI et al., 2005). Outro estudo também demonstrou a capacidade de inibição desta enzima para o extrato CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH e EtOH de *D. divaricata* coletada no Mar Amarelo, China, assim como os extratos EtOH e MeOH de *D. prolifera* coletada nas Ilhas Jeju, Coreia (JEONG et al., 2012; XIANCUI et al., 2005). Já o extrato MeOH de *D. prolifera* e *D. latiuscula* coletadas no Japão apresentaram inibição da atividade da enzima lipase pancreática, sendo esta última de 90 % (BITOU et al., 1999).

Além do metabolismo secundário, alguns compostos do metabolismo primário das algas também tem se mostrado promissores com relação a algumas atividades biológicas (BARROS; TEIXEIRA; PAIXÃO, 2014). Neste sentido, destacam-se os polissacarídeos sulfatos, os quais estão localizados em sua parede celular formando uma matriz mucilagenosa que parece estar relacionada à proteção contra desidratação e também a flexibilidade. No caso das algas pardas é relatado um único e característico grupo de polissacarídeos sulfatados, denominado de fucanas, que apresentam uma grande variabilidade estrutural (BERTEAU; MULLOY, 2003).

Dentre as atividades biológicas relatadas para os polissacarídeos deste gênero, destaca-se principalmente a atividade anticoagulante de algumas espécies coletadas na costa brasileira, como *D. delicatula* coletada em Natal (RN) (COSTA et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2011) e *D. justii* coletada em Maracajaú (RN), que apresentou resultado semelhante ao observado para heparina (MELO et al., 2012). Além disso, os polissacarídeos de *D. polypodioides*, coletada na costa do Líbano, apresentaram atividade anticoagulante (TTPa) e antioxidante (KARAKI et al., 2013). A atividade antioxidante apresentada pelo extrato aquoso de *D. delicatula* coletada em Natal (RN) também foi correlacionada com a presença de polissacarídeos fucanos, os quais também apresentaram atividade antiproliferativa contra células HeLa (COSTA et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2011). Potente atividade contra esta linhagem celular também foi observada para o extrato aquoso de *D. polypodioides*, rico em polissacarídeos, com IC<sub>50</sub> = 9,83 µg/dL, que apresentou também atividade antibacteriana e antifúngica (ABOU ZEID et al., 2014).

Adicionalmente, como já mencionado anteriormente, alguns esteroides isolados de *D. divaricata* coletada no Japão apresentaram importante atividade sobre a inibição da proteína tirosina fosfatase 1B

(PTP1B), em alguns casos comparável ao controle positivo ácido oleanólico (FENG et al., 2018; YANG et al., 2018).

#### 1.5.2.6 Atividades relacionadas aos aspectos ecológicos

Muitos compostos são produzidos pelas algas como mecanismo de defesa químico contra herbívoros e micro-organismos marinhos, bem como para a comunicação entre espécies (atuando como feromônios) (COSTA-LOTUFO et al., 2009). Neste sentido, o Quadro 6 apresenta uma revisão sobre as atividades avaliadas em relação aos aspectos ecológicos, incluindo preferências alimentares, antifouling e alelopatia. Além da inibição da predação de herbívoros maiores, como peixes e ouriços, algumas espécies demonstraram capacidade de inibir a predação de herbívoros de menor porte, como as anfípodas (pequenos crustáceos).

Quadro 6. Estudos relacionados aos aspectos ecológicos realizados com espécies de *Dictyopteris*.

Tipo de material	Compostos ativos	Atividade	Referência
<i>D. acrostichoides</i> Extrato de superfície (4 % de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> em hexano) e extrato de células inteiras (100 % CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	-	Anti-incrustante: o extrato de células inteiras inibiu o incrustamento e desenvolvimento de <i>Ulva australis</i> , enquanto o extrato de superfície não apresentou efeito. Nenhum dos extratos apresentou efeito sobre esporos de <i>Polysiphonia</i> .	NYLUND et al., 2007
<i>D. delicatula</i> Alga inteira	<b>16, 19</b>	Anti-herbivoria: apresentou preferência intermediária na alimentação de peixes, enquanto que as anfípodas consumiram esta alga preferencialmente. Os compostos <b>16</b> e <b>19</b> inibiram o consumo pelos peixes, mas não apresentaram qualquer efeito sobre as anfípodas.	HAY et al., 1988
Ext. CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	Anti-incrustante: não houve inibição da incrustação pelo mexilhão <i>Perna perna</i> .	MEDEIROS; GAMA; GALLERANI, 2007
Ext. aquoso	-	Antiparasitária: fraca atividade sobre o ciclo de vida do ectoparasita <i>Neobenedenia</i> sp. infectando o peixe barramundi ( <i>Lates calcarifex</i> ).	HUTSON et al., 2012
<i>D. divaricata</i> Ext. MeOH	-	Anti-herbivoria: inibição do consumo pelo ouriço-do-mar <i>Strongylocentrotus nudus</i> e do abalone <i>Haliotis discus hannai</i> .	SHIRAIISHI et al., 1991
<i>D. hoytii</i> Alga inteira	-	Anti-herbivoria: não houve ativação das defesas químicas da alga após os danos por herbivoria.	CETRULO; HAY, 2000
Alga inteira	-	Anti-herbivoria: foi preferida pela anfípoda <i>A. longimana</i> em comparação com <i>D. polypodioides</i> (a qual possui compostos com enxofre em sua constituição química)	SCHNITZLER et al., 2001

Quadro 6. Estudos relacionados aos aspectos ecológicos realizados com espécies de *Dictyopteris* (continuação).

Tipo de material	Compostos ativos	Atividade	Referência
<i>D. jamaicensis</i> Alga inteira	-	Anti-herbivoria: não representou alimento de preferência por parte dos peixes testados.	MARQUES; VILLAÇA; PEREIRA, 2006
<i>D. jolyana</i> Alga inteira	-	Anti-herbivoria: apresentou menor preferência de consumo pelos peixes em relação às outras algas analisadas.	LONGO et al., 2015
<i>D. justii</i> Ext. CHCl <sub>2</sub> :MeOH e MeOH.	<b>156</b>	Anti-herbivoria: os extratos brutos foram inativos, mas a mistura de epímeros <b>156</b> apresentou atividade contra a herbivoria pelo caranguejo <i>Pachygrapsus transversus</i> .	TEIXEIRA et al., 2006
<i>D. plagiogramma</i> Alga inteira	-	Anti-herbivoria: baixa preferência de consumo pelos peixes.	MENDES; CORDEIRO; FERREIRA, 2015
Alga inteira	-	Anti-herbivoria: baixa preferência de consumo pelos peixes.	LONGO et al., 2015
<i>D. polypodioides</i> Alga inteira	<b>53</b>	Anti-herbivoria: inibição do consumo pela anfípoda <i>A. longimana</i> e ausência de efeito sobre o consumo pelo ouriço <i>Arbacia punctulata</i> .	SCHNITZLER; BOLAND; HAY, 1998
Alga inteira	-	Anti-herbivoria: menor preferência de consumo pela anfípoda <i>A. longimana</i> em relação a <i>D. hoytii</i> e <i>D. polypodioides</i> (não produtora de compostos contendo enxofre).	SCHNITZLER et al., 2001
Alga inteira	-	Anti-herbivoria: redução do consumo em resposta ao ataque direto por anfípodas, mantendo a palatabilidade.	YUN et al., 2007
Alga inteira	-	Anti-herbivoria: preferência de consumo por <i>Siganus luridus</i> .	STERGIOU, 1988
Ext. dietil éter	-	Anti-incrustante: atividade anti-incrustante e antimicrobiana variável.	HELLIO et al., 2001

Quadro 6. Estudos relacionados aos aspectos ecológicos realizados com espécies de *Dictyopteris* (continuação).

<b>Tipo de material</b>	<b>Compostos ativos</b>	<b>Atividade</b>	<b>Referência</b>
<i>D. undulata</i>			
Ext. etanólico	<b>125-127, 129, 130, 135, 142</b>	Piscicida: o extrato e os compostos isolados apresentaram toxicidade para peixes.	DAVE et al., 1984
Frações neutras e ácidas de extrato MeOH	<b>125, 126, 129-131, 135</b>	Anti-herbivoria: potente atividade inibitória contra os abalones jovens <i>Haliotis discus hanai</i> .	KURATA; TANIGUCHI AND SUZUKI, 1996
Ext. MeOH	<b>125, 126, 132,134-137</b>	Algicida: lise celular moderada/alta contra as espécies de microalgas da maré vermelha.	ISHIBASHI et al., 2013
Ext. EtOH	-	Anti-incrustante: nenhuma atividade contra <i>Ciona intestinalis</i> , <i>Bugula neritina</i> , <i>Spirorbis</i> sp., com aumento da colonização de <i>Ciona intestinalis</i> .	BAKUS; KAWAGUCHI, 1984
Ext. MeOH	<b>125, 126</b>	Antifúngica: atividade moderada contra <i>Phytophthora cinnamomi</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Sclerotium rolfsii</i> .	FENICAL; SIMS, 1973

## 1.6 ATIVIDADE CITOTÓXICA

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células, que invadem tecidos e órgãos (INCA, 2017). Em 2015, cerca de 8,8 milhões de pessoas morreram de câncer no mundo, e estima-se um aumento de 70 % de novos casos nas próximas duas décadas. As formas mais comuns de câncer são: pulmão, mama, col retal, próstata, pele, e estômago (WHO, 2018).

Diversos medicamentos para o tratamento do câncer foram desenvolvidos nas últimas décadas, sendo que os mecanismos de ação dos fármacos citostáticos são bastante variados, podendo interferir em vias de sinalização celular em baixas concentrações. Podem atuar por modulação de vários alvos moleculares que estão frequentemente desregulados no câncer, como por exemplo, fatores de transcrição, fatores de crescimento, citocinas, proteínas quinases e fatores de angiogênese (LEE et al., 2016).

Os produtos naturais têm uma longa história na prevenção e tratamento do câncer, sendo que muitos medicamentos atualmente utilizados na clínica se originaram a partir de produtos naturais, como vincristina, vimblastina, paclitaxel e camptotecina (LEE et al., 2016). No campo dos produtos naturais marinhos, estes também têm se demonstrado como uma fonte promissora de novos fármacos para o tratamento de câncer, sendo que o número de trabalhos neste campo cresceu muito nos últimos anos, conforme a recente revisão realizada por Ruiz-Torres e colaboradores (2017).

Atualmente, há cinco fármacos no mercado derivados de fontes marinhas: a citarabina, mesilato de eribulina (Halaven<sup>®</sup>), brentuximabe vedotina (Adcetris<sup>®</sup>), plitidepsina (Aplidin<sup>®</sup>) e trabectedina (Yondelis<sup>®</sup>), sendo que este último não sofreu qualquer modificação em sua estrutura original (RUIZ-TORRES et al., 2017; DELGADO-CALLE et al., 2019). A citarabina foi o primeiro a ser aprovado, em 1969, e ainda continua sendo o fármaco de escolha para o tratamento de leucemia mieloide, linfoma não-Hodgkin e leucemia meníngea (MARTINS et al., 2014). Além destes, diversos compostos estão em testes de fase clínica, como a tasidotina e soblidotina (fase I), briostatina-1 e hemiasterlina (fase II) e plitidepsina (fase III) (RUIZ-TORRES et al., 2017).

## 1.7 ATIVIDADE AMEBICIDA

O gênero *Acanthamoeba* pertence ao grupo das amebas de vida livre patogênicas, que são protozoários amplamente distribuídos na natureza, causando doenças como ceratite amebiana e encefalite amebiana granulomatosa. Estes protozoários também têm sido associados a lesões cutâneas e sinusite em indivíduos imunocomprometidos (MARCIANO-CABRAL; CABRAL, 2003). As diferentes espécies de *Acanthamoeba* apresentam distribuição cosmopolita, podendo ser encontradas em diversos tipos de ambientes, como rios, lagos, piscinas públicas, água do mar, sistemas de ventilação e aquecimento de ar, solo, plantas, sedimentos marinhos, meios de cultura para bactérias ou células, lentes de contato, dispositivos intra-uterinos, etc. No ser humano, *Acanthamoeba* spp podem ser encontradas como micro-organismos oportunistas, e também há relatos do isolamento destes protozoários em indivíduos saudáveis, podendo constituir parte da flora normal (LORENZO-MORALES et al., 2013).

*Acanthamoeba* spp apresentam dois estágios no seu ciclo de vida: trofozoíto e cisto. O primeiro é o estágio ativo, em que o protozoário é móvel e pode se reproduzir. Já o segundo estágio ocorre

quando as condições ambientais são adversas para a sobrevivência, constituindo a forma resistente (LORENZO-MORALES et al., 2013).

No que se refere às infecções causadas por amebas do gênero *Acanthamoeba*, a mais comum é a ceratite amebiana, uma infecção ocular grave de difícil tratamento. Os sinais e sintomas estão ligados à invasão e a degradação dos componentes da córnea, resultando em vermelhidão, lacrimejamento excessivo, fotofobia, opacidade e edema nas pálpebras (NELSON; SINGH, 2018). Muitas espécies de *Acanthamoeba* têm sido relacionadas à ceratite amebiana, tais como *A. castellanii*, *A. polyphaga*, *A. hachetti*, *A. culbertsoni*, *A. rhyodes*, *A. griffini*, *A. lugdunensis*, *A. quina*, *A. lenticulata*, e *A. royreba* (SCHEID, 2015).

Nos últimos anos, houve um aumento notável na incidência destas infecções, o que pode ser explicado principalmente pelo aumento do número de usuários de lentes de contato, bem como pelo melhor diagnóstico e conscientização (LORENZO-MORALES et al., 2013). A infecção é caracterizada por ser na maior parte dos casos, unilateral, podendo causar fotofobia, lacrimejamento e dor. Em alguns casos, pode evoluir para perda total da visão (LORENZO-MORALES; KHAN; WALOCHNIK, 2015).

A ceratite por *Acanthamoeba* é uma doença relativamente recente e o seu tratamento é ainda bastante complexo, sendo que até o momento, nenhum agente foi descrito como tratamento único efetivo. Como terapia de primeira escolha, tanto para cistos como trofozoítos, recomenda-se utilizar as biguanidas, como a polihexametilbiguanida (PHMB) e a clorexidina, e as diamidinas, como isotionato de propamidina e hexamidina. Como adjuvantes, alguns fármacos antifúngicos tópicos e sistêmicos podem ser utilizados (ORTILLÉS et al., 2017). Assim, numerosas combinações são necessárias, sendo que nem sempre o tratamento é eficaz e vários destes fármacos podem ser irritantes e tóxicos para os pacientes (DERDA; HADAS; THIEM, 2008). Diante disto, surge a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos com atividade amebicida contra cistos e trofozoítos de *Acanthamoeba*.

## 1.8 ATIVIDADE SOBRE A HEMOSTASIA

A coagulação e os processos fibrinolíticos são importantes mecanismos fisiológicos de proteção do organismo que estão finamente interligados em um processo dinâmico para garantir a homeostasia do sistema vascular. Em condições normais, os coágulos de sangue são

necessários para a restauração de áreas danificadas dos vasos, com renovação da superfície endotelial e posterior remoção dos coágulos insolúveis pelo sistema fibrinolítico (VARDANYAN; HRUBY, 2006).

Este processo de formação e a subsequente lise do coágulo é bastante complexo e envolve a atuação de muitas substâncias, dentre elas, os fatores de coagulação, como fibrinogênio, protrombina, tromboplastina, cálcio etc. Já a agregação de trombócitos e sua inibição é rigorosamente regulada pelo sistema tromboxano-prostaciclina. Neste caso, o tromboxano  $A_2$  fortalece a agregação, enquanto a prostaciclina (prostaglandina  $I_2$ ) inibe a agregação (VARDANYAN; HRUBY, 2006).

Distúrbios da hemostasia são bastante frequentes na prática médica e responsáveis por inúmeras condições patológicas. Por um lado, o excesso de coagulação pode levar à obstrução da circulação sanguínea, levando à trombose e, posteriormente, à isquemia, acidente vascular cerebral ou morte. Já a deficiência do mecanismo de coagulação pode levar à hemorragia. Dessa forma, ambas as anormalidades resultam em problemas clínicos que exigem correção (GHOSHAL; BHATTACHARYYA, 2014). Os anticoagulantes e antiagregantes são fármacos que inibem a formação do trombo e evitam a coagulação ou a formação de novos coágulos de sangue (VARDANYAN; HRUBY, 2006).

Como exemplos de fármacos anticoagulantes, pode-se citar a heparina, derivados da cumarina (dicumarol, biscumacetato de etila, varfarina, femprocumona e acenocumarol) e indanona (fenindiona, anisindiona). No entanto, os antitrombóticos disponíveis estão associados a desvantagens significativas que limitam seu uso. No caso da heparina, por exemplo, há dificuldade no controle da dosagem durante o tratamento, podendo ocasionar sangramento e trombocitopenia, além dos problemas relacionados a contaminação e reações imunológicas, além de interações medicamentosas (LIU et al., 2018; CORREIA-DA-SILVA et al., 2011; LI et al., 2017).

No caso de fármacos antiagregantes, destacam-se o ácido acetilsalicílico (um anti-inflamatório não esteroideal que bloqueia a ciclooxigenase e previne a transformação de ácido araquidônico em tromboxano  $A_2$ ), as tienopiridinas (ticlopidina, e clopidogrel), dipiridamol, tirofibana, abciximabe, entre outros. Como no caso dos anticoagulantes, nenhum destes fármacos é suficientemente potente, seguro e ativo por via oral, apresentando limitações que incluem: eficácia limitada, risco de hemorragias, irritabilidade gástrica, resistência ao fármaco (com risco residual de eventos isquêmicos, devido à elevada reatividade das plaquetas) ou a via de administração (já

que alguns tem alto peso molecular e são de uso exclusivamente parenteral) (ANGIOLILLO; UENO; GOTO, 2010).

Apesar do surgimento de novos agentes anticoagulantes e antiagregantes nos últimos anos, como a dabigatrana, rivaroxabana, prasugrel, ticagrelor, há ainda restrições específicas e riscos associados a cada medicamento, que devem ser observados antes de sua utilização. Neste sentido, a busca por novos fármacos eficazes e com melhor perfil de segurança para o paciente é um desafio, e os produtos naturais têm se mostrado uma importante fonte de novas moléculas bioativas. No que concerne aos produtos naturais marinhos, os polissacarídeos sulfatados têm sido mais amplamente estudados (LI et al., 2008).

## 1.9 TRIAGEM VIRTUAL DE ALVOS MOLECULARES

A descoberta de novos fármacos inicia com a identificação de substâncias bioativas, que poderão ser otimizadas com relação a sua potência, seletividade, etc. Nesse contexto, técnicas computacionais modernas (métodos *in silico*), como o *screening* virtual (triagem virtual), podem ser utilizadas (KUMAR; ZHANG, 2015). Considerando-se o expressivo número de alvos biológicos promissores, a técnica de *screening* virtual vem ocupando papel de destaque (FERREIRA; OLIVA; ANDRICOPULO, 2011).

Compostos identificados *in silico* como promissores, tanto do ponto de vista farmacofórico, como do ponto de vista de suas propriedades físico-químicas, podem ser investigados posteriormente por ensaios biológicos (RODRIGUES et al., 2012). Esta estratégia visa acelerar o processo de identificação de ligantes (LIMA, 2007), contribuindo também na redução dos custos, pois evita a realização de testes biológicos de centenas de compostos, selecionando apenas aqueles com a maior probabilidade de se ligar ao alvo molecular de acordo com a avaliação *in silico* (CERETO-MASSAGUÉ et al., 2015). Além disso, essa estratégia possibilita racionalizar o planejamento de testes biológicos para substâncias isoladas em pequenas quantidades, maximizando as chances de detecção de atividades biológicas.



## 2 OBJETIVO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a diversidade química e potenciais atividades biológicas de algas pardas do gênero *Dictyopteris*, coletadas em ilhas oceânicas brasileiras, com vistas à contribuição para o desenvolvimento de novos fármacos.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a análise comparativa dos perfis químicos dos extratos obtidos de espécies de *Dictyopteris* procedentes das diferentes ilhas;
- Realizar o fracionamento de extratos selecionados, com vistas ao isolamento de metabólitos secundários;
- Identificar e/ou elucidar as estruturas dos compostos isolados;
- Avaliar o potencial biológico dos extratos e compostos isolados de *Dictyopteris* em modelos de atividade citotóxica, amebicida, antiagregante plaquetária e anticoagulante;
- A partir das estruturas dos metabólitos isolados, realizar triagem virtual com vistas a identificar potenciais alvos moleculares para avaliações posteriores *in vitro*.



### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

A investigação fitoquímica foi desenvolvida em sua maior parte no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais do CIF/CCS/UFSC, incluindo os experimentos de extração, fracionamento, isolamento e purificação de compostos. Parte dos experimentos foi realizada durante o estágio de Doutorado-Sanduíche no laboratório do Prof. Vassilios Roussis, na Universidade de Atenas, Grécia.

As avaliações das atividades biológicas foram realizadas no laboratório de Protozoários Emergentes e Oportunistas da UFSC (atividade amebicida), sob responsabilidade da Profa. Dra. Karin Caumo; no laboratório de Hematologia Clínica da UFSC (atividade anticoagulante), sob responsabilidade da Profa. Dra. Ana Carolina R. de Moraes; no Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia Marinha, da Universidade Federal do Ceará (atividade citotóxica), sob responsabilidade do Prof. Dr. Diego Wilke; e no laboratório de Química de Produtos Naturais da FURB (atividade anticolinesterásica), sob responsabilidade da Profa. Michele Debiasi Alberton.

#### 3.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

##### 3.1.1 Material vegetal

A coleta das algas foi realizada por colaboradores do projeto ProspecMar-Ilhas (CNPq 458548/2013-8), com equipamentos de mergulho autônomo, em profundidade de até 30 metros, dentro do âmbito das ilhas oceânicas brasileiras. As amostras frescas foram congeladas e, previamente à extração, o material foi descongelado e submetido à triagem para remoção de epífitas e outros organismos. Após, o material foi seco sob ar frio.

Os materiais coletados foram encaminhados para identificação botânica, a qual foi realizada pelo Prof. Dr. Paulo Horta (Departamento de Botânica, CCB, UFSC) e as exsiccatas depositadas no Herbário FLOR (UFSC). A licença para acesso à biodiversidade foi devidamente obtida pela coordenação do projeto ProspecMar-Ilhas.

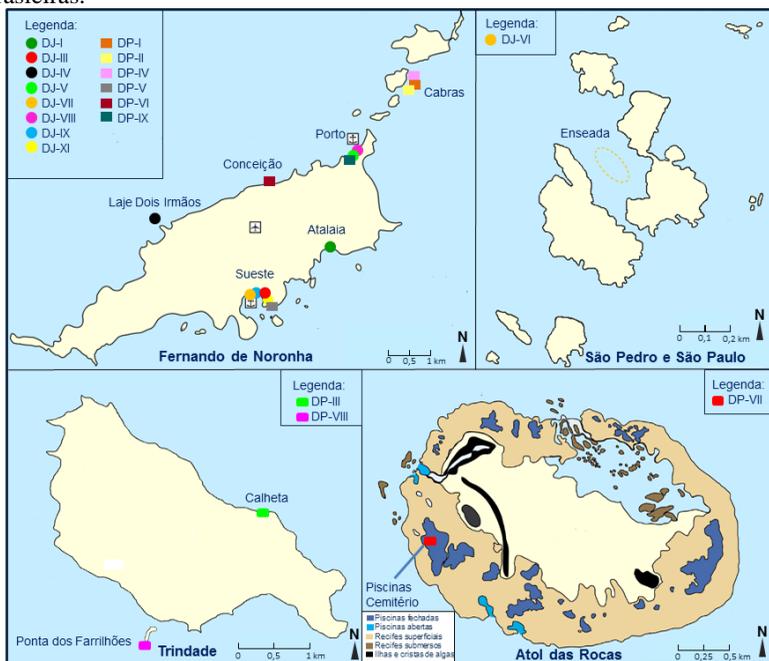
A Tabela 1 apresenta as informações referentes às diferentes espécies de algas coletadas e a Figura 9 apresenta os mapas das ilhas oceânicas com os locais das coletas.

Tabela 1. Lista de algas do gênero *Dictyopteris* coletas em ilhas oceânicas brasileiras.

<b>Código</b>	<b>Local de coleta</b>	<b>Data</b>	<b>Exsicata</b>	<b>Extrato (g)</b>
<i>D. jolyana</i>				
DJ-I	Arquipélago de Fernando de Noronha (Praia do Atalaia)	10/2014	FLOR66395	23,510
DJ-II	Arquipélago de Fernando de Noronha	01/2015	FLOR66396	0,117
DJ-III	Arquipélago de Fernando de Noronha (Costão esquerdo da Baía do Sueste) (1-3 m)	04/2015	FLOR58617	0,022
DJ-IV	Arquipélago de Fernando de Noronha (Laje Dois Irmãos)	08/2013	FLOR66393	0,775
DJ-V	Arquipélago de Fernando de Noronha (Porto)	08/2013	FLOR66393	0,150
DJ-VI	Arquipélago de São Pedro e São Paulo (Enseada) (1-5 m)	10/2015	FLOR58616	3,052
DJ-VII	Arquipélago de Fernando de Noronha (Praia do Sueste)	10/2016	FLOR64464	1,471
DJ-VIII	Arquipélago de Fernando de Noronha (Porto) (7-10 m)	08/2018	FLOR66397	21,593
DJ-IX	Arquipélago de Fernando de Noronha (Praia do Sueste) (1 m)	08/2018	FLOR66398	3,660
DJ-X	Arquipélago de Fernando de Noronha (Praia do Sueste) (1 m)	08/2018	FLOR66400	6,881
<i>D. plagiogramma</i>				
DP-I	Arquipélago de Fernando de Noronha (Cabras) (18 m)	11/2014	FLOR66403	3,349
DP-II <sup>a</sup>	Arquipélago de Fernando de Noronha (Cabras) (12 m)	11/2014	FLOR66401	0,157
DP-III	Ilha da Trindade (Calheta)	08/2014	FLOR66404	1,046
DP-IV <sup>a</sup>	Arquipélago de Fernando de Noronha (Cabras) (12 m)	11/2014	FLOR66402	1,495
DP-V	Arquipélago de Fernando de Noronha (Costão esquerdo da Baía do Sueste) (1-3 m)	04/2015	FLOR58612	1,756
DP-VI	Arquipélago de Fernando de Noronha (Costão direito da Praia da Conceição) (0-5 m)	10/2015	FLOR58611	1,490
DP-VII	Atol das Rocas (Piscinas Cemitério)	05/2016	FLOR64463	4,439
DP-VIII	Ilha da Trindade (Ponto dos Farilhões) (15 m)	08/2017	FLOR64462	4,438
DP-IX	Arquipélago de Fernando de Noronha (Porto) (7-10 m)	08/2018	FLOR66405	3,835

<sup>a</sup> Os extratos DP-II e DP-IV foram reunidos.

Figura 9. Pontos de coleta de espécimes de *Dictyopterus* nas ilhas oceânicas brasileiras.



Fonte: Os mapas foram adaptados das seguintes fontes: Fernando de Noronha e São Pedro e São Paulo (<https://pt.wikipedia.org>); Trindade (<https://www.folha.uol.com.br>); Atol das Rocas (LONGO et al., 2015).

### 3.1.2 Solventes, adsorventes e reagentes

Os solventes e reagentes utilizados para a extração, análise por cromatografia em camada delgada (CCD) e para fracionamento cromatográfico foram de grau analítico, de procedência Synth<sup>®</sup> e Vetec<sup>®</sup>.

Para cromatografia líquida a vácuo (CLV) e cromatografia em coluna aberta (CCA), foi utilizado gel de sílica 60 de procedência Vetec<sup>®</sup>, com tamanho de partículas na faixa de 0,04–0,063 mm. Para CCD foram utilizadas cromatoplaças de alumínio de gel de sílica 60 F-254, das marcas Macherey-Nagel<sup>®</sup> e Merck<sup>®</sup>. Para a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), foram utilizados solventes de grau HPLC e coluna Econosphere Silica 10 µm (250 × 10 mm; Grace<sup>®</sup>).

Purificação por cromatografia de exclusão em gel foi realizada com resina de Sephadex<sup>®</sup> LH-20. Na extração em fase sólida (EFS), foi utilizado cartucho Supelclean<sup>™</sup> 3 mL da marca Supelco e seringa preenchida com gel de sílica 60.

Os reagentes utilizados para revelação cromatográfica em CCD foram solução acidificada de anisaldeído (0,5 mL de anisaldeído; 10,0 mL de ácido acético glacial; 85,0 mL de etanol; 5,0 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado) e solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15 % em MeOH, preparados a partir de reagentes de grau analítico. Para obtenção dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foi utilizado clorofórmio deuterado (CDCl<sub>3</sub>). Para obtenção dos espectros de massas por CG-EM e EMAR foram utilizados solventes de grau HPLC.

### 3.1.3 Equipamentos

Os extratos e as frações obtidas nos procedimentos cromatográficos foram concentrados em rotaevaporador da marca Büchi<sup>®</sup>. As placas de CCD foram reveladas sob luz ultravioleta (254 nm e 366 nm) em câmara de revelação modelo Prodicil<sup>®</sup> VA 50.

Procedimentos de purificação foram realizados por CLAE, utilizando-se um cromatógrafo equipado com bomba Pharmacia<sup>®</sup> LKB 2248 e detector de índice de refração Shodex<sup>®</sup> RI-201 (Departamento de Farmacognosia e Química de Produtos Naturais, Universidade de Atenas).

Os espectros de RMN foram obtidos em equipamento Bruker, modelos Fourier 300 (Departamento de Ciências Farmacêuticas, UFSC), DRX 400 (Departamento de Farmacognosia e Química de Produtos Naturais, Universidade de Atenas), e Bruker Avance III-600 (Departamento de Química, UFPR).

As análises por espectrometria de massas de alta resolução (EMAR) foram realizadas em equipamento Xevo G2-S Qtof MS (Waters) (Laboratório CentralCrom, Departamento de Ciências Farmacêuticas, UFSC), UFLC Prominence (Shimadzu) acoplado ao micrOTOF-Q focus II (Bruker) (Laboratório Multiusuário de Espectrometria de Massas do CEBIME).

As análises por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas em equipamento Perkin-Elmer GC Clarus 680<sup>®</sup> (Laboratório CentralCrom, Departamento de Ciências Farmacêuticas, UFSC).

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Obtenção dos extratos e avaliação de atividades biológicas

O material vegetal seco foi rasurado, e os extratos brutos obtidos por sucessivas macerações de todas as partes da alga com mistura de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH na proporção 2:1, em temperatura ambiente, por um período de sete dias. Os extratos obtidos foram concentrados em rotaevaporador, sob pressão reduzida, em temperatura de cerca de 38 °C. Este procedimento foi repetido por mais duas vezes. Os rendimentos de cada um dos extratos estão apresentados na Tabela 1.

Os extratos brutos obtidos foram (ou estão sendo) avaliados nos modelos de atividade citotóxica, amebicida e anticoagulante e antiagregante plaquetária, conforme descrito nos itens subsequentes. Os extratos mais ativos e com maiores rendimentos foram selecionados para a realização de fracionamento cromatográfico, e, quando possível, suas frações também foram avaliadas.

### 3.2.2 Procedimentos de fracionamento

Os extratos brutos com quantidades superiores a 1,0 g, bem como suas frações, foram submetidos a procedimentos de separação cromatográfica por adsorção em cromatografia líquida a vácuo (CLV) e cromatografia em coluna aberta (CCA), utilizando-se gel de sílica 60. Para algumas frações a separação cromatográfica foi realizada por exclusão, utilizando-se a resina Sephadex<sup>®</sup> LH-20 em cromatografia em coluna aberta (CCA). Em alguns casos a purificação final foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Todas as frações obtidas foram nomeadas Xy-z, onde X corresponde ao nome da coluna, e “y” e “x” aos limites do intervalo de frações reunidas. As análises em CCD foram realizadas sob luz ultravioleta, em 254 e 366 nm, sendo utilizado como revelador uma solução acidificada de anisaldeído.

Informações referentes aos procedimentos cromatográficos adotados em cada uma das colunas estão descritas no Apêndice A.

### 3.2.3 Identificação ou elucidação estrutural

A identificação ou elucidação estrutural dos metabólitos isolados foi realizada através da obtenção e análise de espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ , em experimentos uni- e bidimensionais, além da consulta a base de dados MarinLit<sup>®</sup> (Royal Society of

Chemistry). Quando possível, também foram obtidos espectros de massas e os dados obtidos foram comparados com os de compostos semelhantes, publicados na literatura.

### 3.2.3.1 Análises por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As análises por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizadas nos equipamentos Bruker Fourier 300, DRX 400 e Bruker Avance III-600, obtendo-se espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , além dos mapas de correlação  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (*Correlation Spectroscopy*), HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Correlation*) e HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*). Os espectros foram calibrados através do sinal do tetrametilsilano (TMS), ou do solvente, quando este não continha TMS. Os dados adquiridos (FID – decaimento de indução livre) foram processados no programa TopSpin versão 3.5 pl 7 (Bruker).

### 3.2.3.2 Análises diretas em Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR)

As análises por espectrometria de massas de alta resolução (EMAR) foram realizadas em equipamento Xevo G25 Qtof MS (Waters) e micrOTOF focus II (Bruker), ambos com fonte de ionização por Electrospray (ESI). Os parâmetros utilizados para o equipamento Xevo G25 Qtof MS (Waters) foram: voltagem do capilar de 2 kV; temperatura do cone e de dessolvatação de 80 e 120 °C, respectivamente; fluxo do gás  $\text{N}_2$  utilizado para controlar as temperaturas do cone e de dessolvatação foram de 100 e 400 L/h, respectivamente; leucina encefalina e formiato de sódio foram utilizados como referência. Os dados adquiridos foram processados no programa MassLynx versão 4.1 (Waters).

Os parâmetros utilizados para o equipamento micrOTOF focus II (Bruker) foram: voltagem do capilar de 4,5 kV; pressão do gás de nebulização de 0,4-2 bar; fluxo dos gás de secagem de 40-80 L/min; temperatura da fonte de ionização de 200 °C. Formiato de sódio foi utilizado como referência. Os dados adquiridos foram processados no programa DataAnalyses versão 3.4 (Bruker).

### 3.2.3.3 Análises por Cromatografia Líquida Ultra Rápida acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução (UFLC-ESI-MS)

As análises de UFLC-ESI-MS empregadas para comparação do perfil químico dos extratos de *Dictyopteris* foram realizadas no laboratório Laboratório Multiusuário de Espectrometria de Massas do CEBIME (UFSC), sob responsabilidade técnica do servidor Mauro Henrique Dartora Dutra. Os experimentos foram realizados em um UFLC Prominence (Shimadzu) acoplado a um espectrômetro de massas micrOTOF-Q focus II (Bruker) com ionização por Electrospray (ESI) e analisador do tipo QqTOF.

Os extratos e compostos puros foram solubilizados em ACN:MeOH (1:1), na concentração de 1,0 mg/mL, e filtrados com uma membrana filtrante de náilon com poro de 0,22 µm. Uma alíquota de 2 µL dos extratos foi injetada e a separação cromatográfica realizada em uma coluna cromatográfica de fase reversa Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> (2,1 mm x 50 mm; 1,7 µm). O método cromatográfico empregado foi desenvolvido e otimizado com compostos isolados de extratos de *Dictyopteris* deste mesmo trabalho de tese. Como fase móvel foi utilizado um gradiente composto por acetonitrila (ACN) (bomba A) e H<sub>2</sub>O com ácido fórmico (0,1%) (v/v) (bomba B), conforme o seguinte programa de eluição: 40% de A durante 1 minuto; aumento de 40% para 60% de A em 1 minuto; aumento de 60% para 95% de A em 12 minutos, e então matendo-se esta propoção durante 1 minuto; aumento de 5% para 60% de B em 1 minuto e então matendo-se esta proporção até 21 minutos. A vazão da fase móvel foi de 0,3 mL/min. As amostras foram analisadas em sequência iniciando-se pelo branco (ACN:MeOH, 1:1), o qual foi reinjetado após cada uma das amostras.

Os espectros de massas foram adquiridos no modo de ionização positivo, na faixa de varredura de 150 – 800 *m/z*, com voltagem no spray de 4,5 kV. A calibração do aparelho foi realizada empregando-se formiato de sódio.

Os dados foram processados e armazenados utilizando o software DataAnalyses versão 3.4 (Bruker). A análise dos perfis químicos foi realizada por comparação dos tempos de retenção e dos dados de perfil de fragmentação de alguns compostos puros isolados no âmbito desta tese, além dos dados teóricos de outros compostos reportados para o gênero *Dictyopteris*.

### 3.2.3.4 Análises por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

As análises por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas em equipamento Perkin-Elmer GC Clarus 680<sup>®</sup> acoplado ao espectrômetro Clarus SQ8<sup>®</sup> com detector quadrupolo, coluna capilar apolar Elite-5mS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm). As amostras (1 µL) foram injetadas no modo *split* (5,0 mL/min), utilizando-se como gás de arraste hélio, com fluxo constante de 1 mL/minuto. Usou-se temperatura programada de 60 °C (1 min), seguida do aumento de 10 °C/min até 190 °C e, após, 10 °C/min até 300 °C (10 min). A temperatura do injetor foi de 250 °C e foi utilizado um feixe elétrons padrão de 70 eV. Os dados adquiridos foram processados no programa TurboMass versão 6.1.0.1963 (Perkin-Elmer).

### 3.2.4 Avaliação das atividades biológicas

#### 3.2.4.1 Avaliação da atividade citotóxica

O ensaio de avaliação da atividade citotóxica das amostras (extratos, frações e compostos isolados) se baseou na mensuração da absorbância da formazana formada após a metabolização do sal de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) pelas células tumorais viáveis (MOSMANN, 1983).

A linhagem de células tumorais utilizadas para realização da triagem inicial dos extratos brutos e frações foi HCT-116 (adenocarcinoma de cólon). Posteriormente, outras linhagens celulares foram utilizadas para avaliação dos compostos: B16-F10 (melanoma metastático murino), PC3-M (carcinoma de próstata metastático humano) e 293A (célula de rim embrionário - linhagem normal). As células foram cultivadas em meio de cultura RPMI 1640 suplementado com 10 % de soro fetal bovino, plaqueadas em placas de 96 poços e expostas às amostras por 72 horas. Três horas antes do término do tempo de incubação, o sal de MTT (0,5 mg/mL) foi adicionado e a absorbância mensurada a 595 nm. A triagem inicial foi realizada utilizando-se a concentração de 50 µg/mL das amostras para avaliar a porcentagem de inibição do crescimento da célula tumoral. Posteriormente, o valor de CI<sub>50</sub> (concentração inibitória 50 %) foi calculado por regressão não linear utilizando o GraphPad Prism, versão 4.0. Como controle positivo foi utilizado o fármaco doxorrubicina.

### 3.2.4.2 Avaliação da atividade amebicida

A avaliação da atividade amebicida foi realizada utilizando-se trofozoítos de *Acanthamoeba castellanii* (ATCC 30010), cultivados em meio líquido PYG (proteose peptona, extrato de levedo e glicose), acrescido de penicilina-estreptomicina (40 µL/mL) (estufa 30 °C). A cultura experimental padrão utilizada nos ensaios foi preparada de forma a apresentar uma concentração final de  $8 \times 10^3$  trofozoítos/mL (contados em câmara). Para a indução do encistamento, cerca de  $5 \times 10^5$  de trofozoítos na fase de crescimento exponencial foram incubados com 10 mL de meio de encistamento (95 mM NaCl, 5 mM KCl, 8 mM MgSO<sub>4</sub>, 0,4 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM NaHCO<sub>3</sub>, 20 mM Tris-HCl, pH 9,0) durante 72 horas. As alterações morfológicas foram observadas utilizando microscópio e ao final foi adicionando o detergente sarkosyl (Sigma 61747; Sigma-Aldrich Co), possibilitando a lise dos trofozoítos remanescentes.

O extrato bruto DJ-I, algumas de suas frações e a substância Dj1 foram preparados em solução estéril de tampão fosfato contendo 5 % de Tween 20, filtrando-se a solução final em membranas estéreis de acetato de celulose (poros de 0,22 µm). Foram preparados também controle positivo (biguanida 0,02% e clorexidina 0,02%) e negativo (solução estéril de tampão fosfato contendo 5 % de Tween 20).

O ensaio foi realizado em micropalcos de 96 micropoços utilizando-se diferentes concentrações das amostras (0,625 a 15 mg/mL). As placas foram seladas e incubadas em estufa a 30 °C. Os danos celulares sobre *A. castellanii* foram observados em microscópio invertido após 48 horas, e a contagem dos trofozoítos em câmara de Fuchs-Rosenthal. O percentual de mortalidade de cada amostra testada foi obtido comparando-se o número de células encontradas no teste ao número de células encontradas no controle negativo no tempo determinado. O valor da CI<sub>50</sub> (concentração da amostra necessária para inibir 50 % do crescimento amebiano) foi determinado por meio da análise de regressão linear com os limites de confiança de 95 %, utilizando o programa GraphPad Prism, versão 5.0.

### 3.2.4.3 Avaliação da atividade anticoagulante e antiagregante plaquetária

O estudo de coagulação foi realizado de acordo com Triplett, Harms e Koepke (1978) utilizando-se coagulômetro semi-automatizado (CLOTimer, Quick Timer). Para os ensaios de coagulação, foi utilizado

um *pool* de plasma pobre em plaquetas (PPP). Para a obtenção do *pool* de PPP, as amostras de sangue anticoagulado com citrato de sódio 0,38 % foram centrifugadas a 1.107 g por 15 minutos à temperatura de 8 °C. Após a centrifugação, o sobrenadante (PPP) de todos os tubos foi transferido para um tubo tipo Falcon de 15 mL. Para a realização dos ensaios, 100 µL do *pool* de PPP foram incubados a 37 °C por 5 minutos com 10 µL de extrato bruto de alga ou de veículo de dissolução (DMSO 0,7 % concentração final) e, em seguida, foram realizados os testes de tempo de protrombina (TP) ou de tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) conforme a bula do *kit* HemosIL® (Instrumentation Laboratory, Massachusetts, EUA).

A agregação plaquetária foi avaliada de acordo com Born e Cross (1963), utilizando-se um agregômetro semi-automatizado (Agrego, Qualitem). Depois de coletadas as amostras de sangue total, as plaquetas foram isoladas através de centrifugação do sangue citratado a 123 g por 10 minutos à temperatura ambiente para a obtenção do *pool* de plasma rico em plaquetas (PRP). As plaquetas foram contadas em câmara de Neubauer e reajustadas com PBS para 250.000 plaquetas/mm<sup>3</sup> e foi utilizada a epinefrina ou o ADP (Hipolabor, Minas Gerais, BR) como agonista. Para avaliar os efeitos dos extratos brutos, frações e compostos sobre a agregação plaquetária, 400 µL do *pool* de PRP foram incubados a 37 °C por 5 minutos com 10 µL de extrato bruto, de frações de extrato bruto, de composto ou de veículo de dissolução (DMSO 0,6 % concentração final). A seguir, as amostras foram estimuladas individualmente com epinefrina ou ADP e a agregação foi acompanhada por 5 minutos. Para acertar a linha de base de turbidez da amostra, utilizou-se o PPP obtido pela centrifugação das amostras de sangue citratado a 1.107 g por 15 minutos à temperatura de 8 °C. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas e dentro de um período de três horas após a coleta da amostra de sangue.

#### 3.2.4.4 Avaliação da atividade anticolinesterásica

A inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase foi determinada apenas para o composto Dj13, o qual foi selecionado durante a etapa de triagem virtual descrita na sequência. Para isso, foram incubadas, inicialmente, 100 µL de diferentes concentrações do composto selecionado, com 325 µL de tampão Tris-HCl (pH 8) e 25 µL de uma solução de enzima contendo 0,28 U/mL, durante 15 minutos. Subsequentemente, 75 µL de uma solução de AChI 0,023 mg/mL e 475 µL de reagente de Ellman 3mM (ou DTNB, ácido 5,5'-ditiobis-2-

nitrobenzóico) foram adicionados. A mistura final foi incubada durante 30 min à temperatura ambiente. A absorbância da mistura foi medida a 405 nm (MATA et al., 2007). Foi preparado um controle negativo com o solvente utilizado para dissolver a amostra (metanol) e um controle positivo com galantamina. A inibição foi calculada através da fórmula abaixo:

$$I (\%) = 100 - (A_{\text{amostra}}/A_{\text{controle}}) \times 100$$

Onde,  $A_{\text{amostra}}$  é a absorbância da amostra e  $A_{\text{controle}}$  é a absorbância do controle negativo. Os testes foram realizados em triplicata e um gráfico relacionando o percentual de inibição com a concentração da amostra foi gerado.

### 3.2.5 Triagem virtual de alvos moleculares

A busca de possíveis alvos moleculares para os derivados C<sub>11</sub> contendo enxofre isolados neste trabalho foi realizada por meio da plataforma on-line desenvolvida pelo Instituto Suíço de Bioinformática (SIB Swiss Institute of Bioinformatics) utilizando-se a ferramenta SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch>). Dessa forma, os compostos foram inicialmente desenhados na interface do website para obtenção do código SMILES, e, posteriormente, foi selecionado o tipo de organismo para realizar a predição (neste caso, foi utilizado como padrão “humanos”). Após a submissão dos dados, foi gerada uma tabela com possíveis alvos moleculares, ranqueados de acordo com o *score* de similaridade 2D e 3D obtido por comparação com ligantes conhecidos. O valor de *score* é transformado e exibido na forma de probabilidade (chance das previsões serem corretas), a qual leva também em conta resultados de validações cruzadas (GFELLER et al., 2014).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesta tese foram organizados de forma a apresentar e discutir inicialmente o perfil químico geral das amostras de *Dictyopteris* coletas nas ilhas oceânicas brasileiras. Na sequência, os dados de isolamento e caracterização estrutural de metabólitos secundários estão descritos separadamente para cada espécie estudada. Por fim, serão apresentados os resultados das avaliações das atividades biológicas realizadas por meio de parcerias, assim como a triagem virtual de alvos moleculares para os compostos isolados.

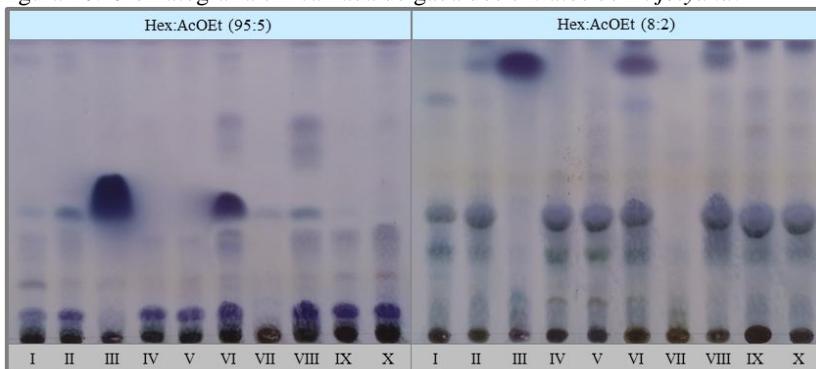
### 4.1 ANÁLISE GERAL DOS EXTRATOS

Foram coletadas 19 amostras de algas, sendo 10 amostras de *D. jolyana* e 9 de *D. plagiogramma*, provenientes de diferentes locais dos Arquipélagos de Fernando de Noronha e São Pedro e São Paulo, Ilha da Trindade e Atol das Rocas, conforme Tabela 1. Os diferentes extratos foram comparados por meio de CCD (Figuras 10 e 11), espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e em UFLC-ESI-MS (modo positivo) (Figuras 12 e 13).

Diversas classes de compostos foram identificadas e posteriormente alguns destes compostos também foram isolados, incluindo ácidos graxos, triglicerídeos, tocoferóis, fucosterol, derivados de ácido ftálico, e compostos contendo enxofre. De maneira geral, foi observado grande quantidade de ácidos graxos e triglicerídeos, os quais são bastante comuns em algas pardas e importantes do ponto de vista nutricional, visto que inúmeras algas são comestíveis (EICHENBERGER; ARAKI; MULLER, 1993). Vários estudos já demonstraram a presença destes compostos no gênero *Dictyopteris*, como em *D. polyodioides* (KARAKI et al., 2013; HOFMANN; EICHENBERGER, 1997; HOFMANN; EICHENBERGER, 1998; EICHENBERGER; ARAKI; MULLER, 1993), *D. australis* (GOSCH et al., 2015; VALEEM; SHAMEEL et al., 2012), *D. delicatula* (FLEURY et al., 1994; KUMARI et al., 2014), *D. justii* (FERREIRA et al., 2012) e *D. plagiogramma* (FLEURY et al., 1994).

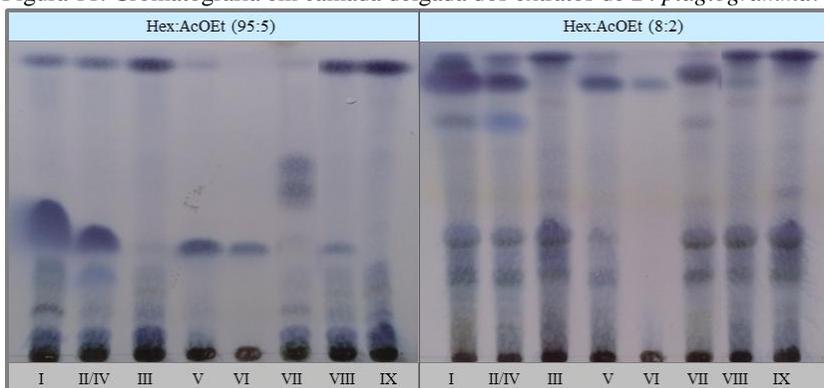
Dentre os compostos identificados, destacam-se os compostos contendo enxofre, os quais são incomuns em algas, além de derivados de ácido ftálico, que podem ser provenientes de diferentes fontes, inclusive da poluição ambiental. Por conta disso, estas classes de compostos foram discutidas separadamente nos itens subsequentes.

Figura 10. Cromatografia em camada delgada dos extratos de *D. jolyana*.



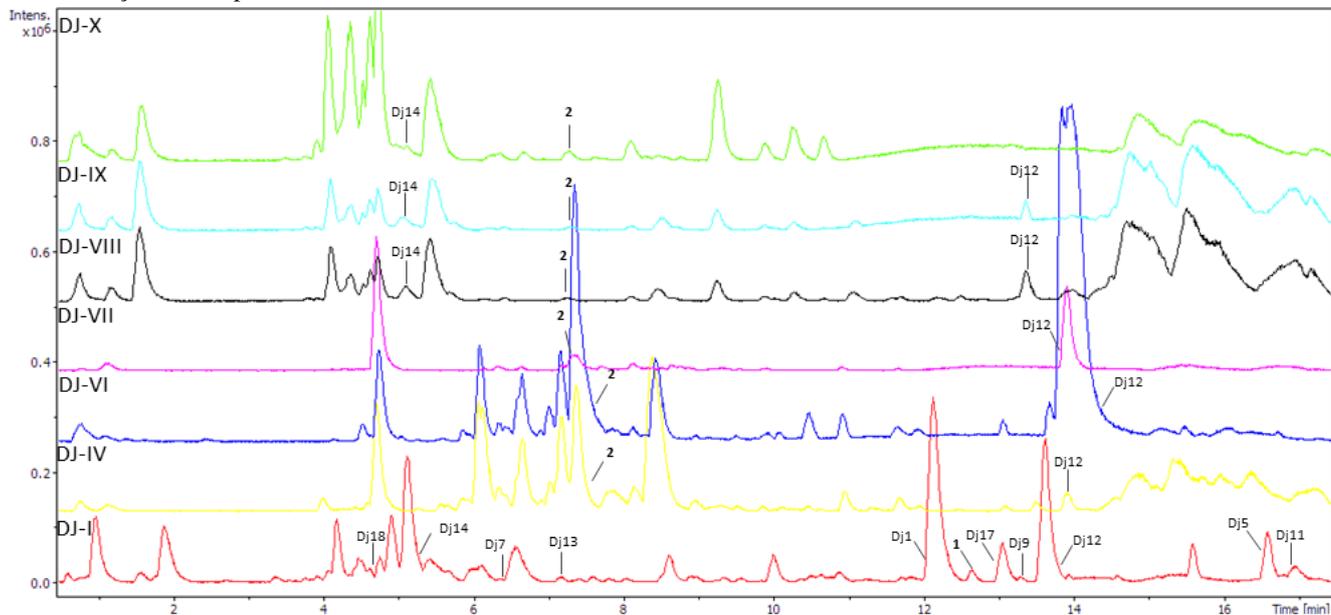
\* Cromatografia realizada com placas de sílica gel 60 e reveladas com solução acidificada de anisaldeído seguido de aquecimento.

Figura 11. Cromatografia em camada delgada dos extratos de *D. plagiogramma*.



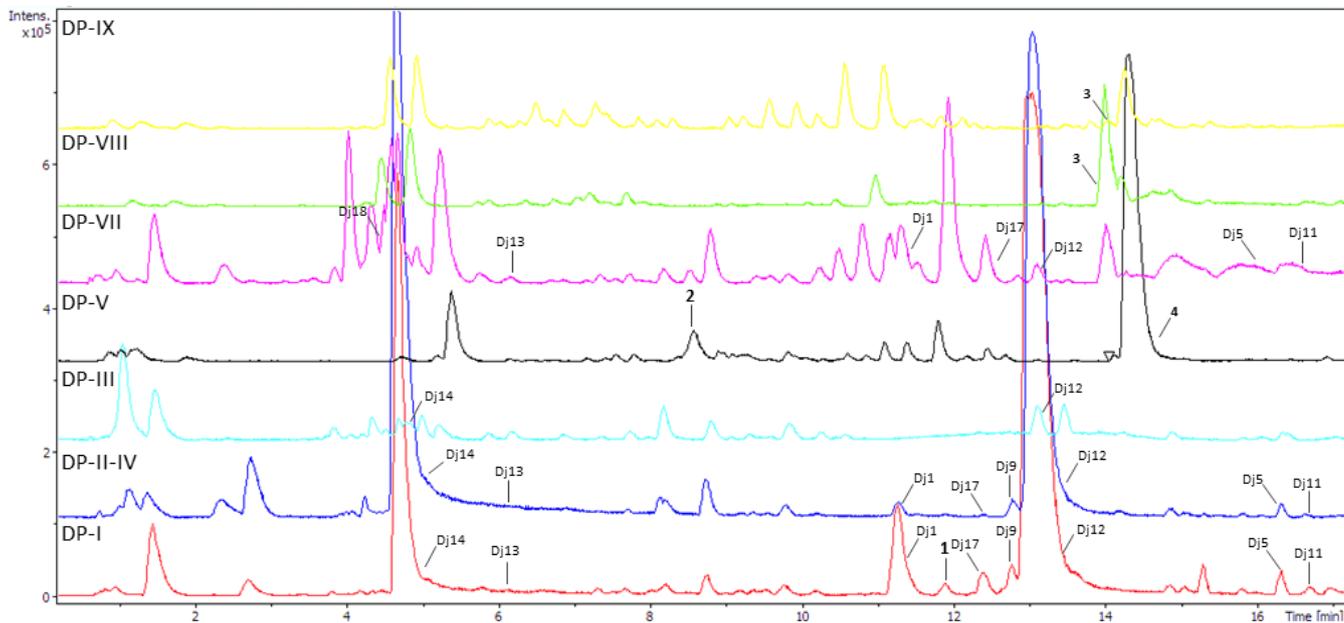
\* Cromatografia realizada com placas de sílica gel 60 e reveladas com solução acidificada de anisaldeído seguido de aquecimento.

Figura 12. Perfil químico dos extratos de *D. jolyana* em UFLC-ESI-MS obtido no modo de ionização positivo, com destaque para a identificação de compostos contendo enxofre e derivados de ácido ftálico.



\* As amostras DJ-II, DJ-III, DJ-V não foram analisadas.

Figura 13. Perfil químico dos extratos de *D. plagiogramma* em UFLC-ESI-MS obtido no modo de ionização positivo, com destaque para a identificação de compostos contendo enxofre e derivados de ácido ftálico.



\* A amostra DP-VI não foi analisada.

#### 4.1.1 Caracterização da presença de compostos contendo enxofre

Compostos contendo enxofre foram caracterizados nos extratos em RMN de  $^1\text{H}$  por meio da visualização de sinais característicos dos compostos já relatados para *Dictyopteris* e isolados no presente trabalho (dados descritos nos itens subsequentes): multipletto entre  $\delta_{\text{H}}$  2,85 e  $\delta_{\text{H}}$  3,00 (correspondente aos metilenos desblindados vicinais ao enxofre e à carbonila), dupletto em regiões próximas de  $\delta_{\text{H}}$  6,08 e duplo tripletto em  $\delta_{\text{H}}$  6,89, correspondentes aos hidrogênios da dupla ligação. Em CCD os compostos foram identificados pela presença de manchas que, após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquirem cor marrom. Já em UFLC-ESI-MS, foram utilizados compostos isolados no âmbito deste trabalho que serviram como padrões de tempo de retenção e perfil de fragmentação.

Dessa forma, oito compostos contendo enxofre (Dj1, Dj5, Dj7, Dj9, Dj11, Dj13, Dj17, Dj18) (Figura 16) foram identificados nos extratos DJ-I, DP-I, DP-II, DP-IV e DP-VII, conforme pode ser visualizado nos cromatogramas apresentados nas Figuras 12 e 13. Além disso, foi possível detectar a presença de outros compostos similares, porém ainda não identificados, possivelmente por tratar-se de estruturas novas. No cromatograma do extrato DJ-I verificou-se um pico em 12,6 min (**1**) com íons de  $m/z$  421,2255 e  $m/z$  399,2433. Os mesmos íons foram observados no extrato DP-I em um pico com tempo de retenção de 11,9 min. Estes dados sugerem tratar-se de algum isômero do composto Dj1.

Compostos contendo enxofre somente foram identificados em materiais coletados em Fernando de Noronha e Atol das Rocas. Este fato é interessante do ponto de vista geográfico, uma vez que estas ilhas são bastante próximas (cerca de 100 km de distância), pertencendo inclusive à mesma cadeia de montanhas vulcânicas e compartilhando condições climáticas e espécies semelhantes (CLAUDINO-SALES, 2018; FLOETER et al. 2001; FLOETER et al. 2008).

Vários trabalhos têm descrito a produção de metabólitos secundários como mecanismo de defesa química contra a herbivoria. Silva (2016) demonstrou que estas ilhas apresentam similaridade com relação aos peixes herbívoros, responsáveis pela pressão alimentar sobre os bentos. Constatou-se que a espécie *Acanthurus chirurgus* foi responsável por exercer a maior pressão alimentar em ambas as ilhas, principalmente em locais com maior cobertura de espécies de *Dictyopteris*, enquanto na ilha da Trindade verificou-se inexistência deste herbívoro.

Longo et al. (2019) verificaram maior interação biótica, especialmente interações planta-herbívoros, nas regiões tropicais, ocorrendo diminuição da pressão de herbivoria com o aumento da latitude em ambos os hemisférios. Tal fato pode explicar, de certa forma, os achados neste trabalho para a ilha da Trindade, em cujas amostras não foram detectados compostos contendo enxofre. Além disso, de acordo com Floeter et al. (2008) a biodiversidade marinha na ilha da Trindade é marcadamente baixa, sendo considerada uma das mais pobres dentre as ilhas tropicais no mundo. Isto pode estar associado ao tamanho relativamente pequeno e ao maior distanciamento do continente (1.160 km) (PEREIRA-FILHO et al., 2011; SERAFINI et al., 2010). Adicionalmente, a abundância do gênero *Dictyopteria* em Trindade é menor, sendo que a maior parte das espécies de algas correspondem aos gêneros *Caulerpa*, *Dictyota* e *Canistrocarpus* (PEREIRA-FILHO et al., 2011), o que dificulta a própria etapa de coleta e reflete no número de amostras disponíveis.

Da mesma forma, o Arquipélago de São Pedro e São Paulo é caracterizado pelo maior isolamento em relação à costa (945 km de distância), verificando-se um alto nível de endemismo de peixes, acompanhado de menor diversidade em comparação com outras ilhas oceânicas (QUIMBAYO et al., 2019). Tal característica pode contribuir para menor pressão de herbivoria, justificando a não produção de metabólitos de defesa, como foi observado para o extrato DJ-VI. Há de se destacar, no entanto, que o posicionamento geográfico estratégico entre os dois hemisférios e entre os continentes sulamericano e africano, torna esta uma importante zona de alimentação, reprodução e abrigo de várias espécies migratórias, como peixes e crustáceos (BURGOS et al., 2009), o que pode levar a variações sazonais na produção de tais metabólitos.

Com relação à época da coleta, esta não parece ser um fator determinante único na produção de compostos contendo enxofre nas espécies analisadas. No caso de Fernando de Noronha, os extratos que apresentaram tais compostos (DJ-I, DP-I, DP-II e DP-IV) correspondem a amostras coletadas nos meses de outubro e novembro de 2014. No entanto, em outras amostras coletadas na mesma época, porém em outros anos e em localidades diferentes (DJ-VII, DP-VI e DP-III), não foi possível detectar a presença destes compostos. Adicionalmente, a presença destes metabólitos no extrato DP-VII (Atol das Rocas, maio de 2016) reforça esta hipótese, sugerindo-se uma combinação de fatores influenciando na biossíntese dos mesmos.

Com relação à profundidade do material coletado, não é possível estabelecer se este foi um fator determinante na produção de compostos contendo enxofre, visto que não há dados de profundidade disponíveis para todas as amostras. No entanto, com base apenas nas informações disponíveis, variações com relação à profundidade parecem não exercer forte influência sobre a produção destes metabólitos. Tal fato é interessante, uma vez que a profundidade é considerada uma das variáveis mais importantes que afetam a estrutura das assembleias de peixes, os quais exercem um papel importante nas interações bióticas (PEREIRA-FILHO et al., 2011).

Além desta análise geral das amostras, os dados apontam também para variações na produção de metabólitos contendo enxofre entre as espécies (variação interespecífica), bem como para a mesma espécie em épocas e locais diferentes (variação intraespecífica). Neste sentido, observou-se que *D. plagiogramma* apresentou maior número de amostras contendo estes metabólitos de interesse (4 extratos de 10 analisados) quando comparada a *D. jolyana* (1 extrato de 11 analisados).

Diversos fatores podem explicar este achado, sendo que a susceptibilidade à herbivoria poderia exercer um papel fundamental na determinação da produção destes metabólitos secundários. Neste caso, alguns fatores intrínsecos de cada espécie, como a composição de nutrientes e os atributos morfológicos dos talos (tamanho e textura, por exemplo) podem influenciar na escolha pelos herbívoros, o que poderia desencadear a produção de metabólitos secundários como forma de defesa. Isto se torna mais evidente quando se observa que a espécie *D. jolyana* apresenta talos maiores e mais resistentes do que *D. plagiogramma*, a qual apresenta talos mais delicados, conforme pode ser observado na Figura 2. Tal característica poderia contribuir para uma maior rejeição da espécie *D. jolyana* por parte dos peixes herbívoros. Adicionalmente, outras questões relacionadas à palatibilidade e qualidade nutricional podem influenciar a escolha.

As variações intraespecíficas podem estar relacionadas a adaptações fisiológicas e morfológicas das algas como reflexos de estratégias de sobrevivência em termos de capacidade de crescimento, reprodução, tolerância ambiental, resistência a predação, competição (por nutrientes, espaço e luz), condições ambientais, como a profundidade e a exposição às ondas, entre outros. Estas estratégias podem mudar ao longo da vida de determinadas espécies, alterando também a susceptibilidade à herbivoria (LITTLER; LITTLER, 1980).

Neste contexto, a ocorrência de um fenômeno anormal de invasão de uma grande biomassa de *Sargassum* flutuante na região norte

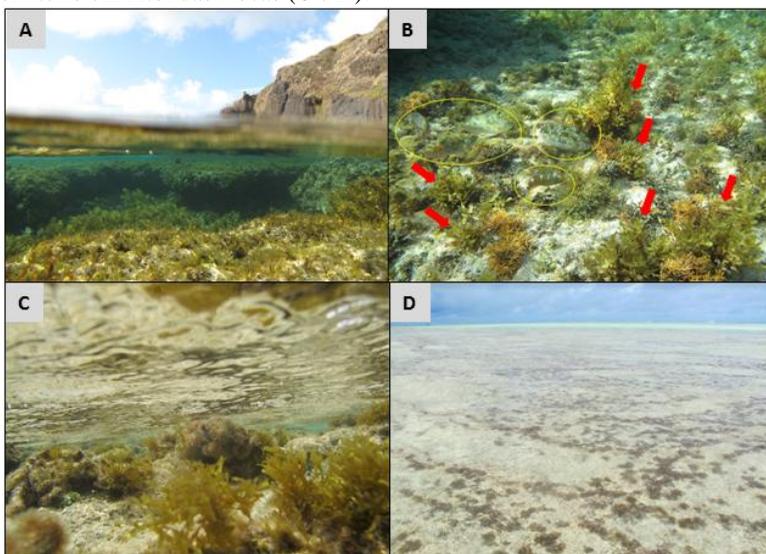
do Brasil entre os anos de 2014 e 2015 poderia também estar relacionada com o perfil químico diferenciado destas algas coletadas em Fernando de Noronha no ano de 2014. Este fenômeno foi relacionado às temperaturas anormais registradas na época (acima da média em comparação a outros anos), além de um aumento de nutrientes na água, provocado pelo despejo de resíduos. Considerando a enorme biomassa destas ilhas flutuantes de *Sargassum*, sua presença pode ser uma fonte adicional de estresse ambiental, já que elas podem produzir impactos similares como as marés vermelhas e verdes em águas eutróficas, dificultando a penetração de radiação solar, aumentando a demanda de oxigênio e eventualmente também sintetizar e liberar compostos químicos com propriedades alelopáticas (SISSINI et al., 2017; VAZ-PINTO et al., 2014). Além disso, como demonstrado por Sissini et al. (2017), este *Sargassum* flutuante estava associado a diversos outros organismos, como epífitas, invertebrados e peixes, os quais poderiam comprometer o equilíbrio do ecossistema local por serem exóticos para aquela região.

Com relação à amostra de *D. plagiogramma* coletada em Atol das Rocas (extrato DP-VII), a presença destes compostos contendo enxofre certamente configura um mecanismo de defesa químico contra a herbivoria. O local de coleta (piscina do Cemitério) caracteriza-se por ser uma piscina fechada (Figura 14). De acordo com Longo et al. (2015), estes ambientes funcionam como refúgio para os peixes recifais durante a maré baixa, onde os mesmos conseguem se alimentar mais facilmente, uma vez que há proteção contra a ação das ondas e das correntes, o que não ocorre em regiões abertas. Dessa forma, em trabalho pelos mesmos autores, foi observado que as espécies *D. jolyana* e *D. plagiogramma* eram relativamente mais abundantes nas piscinas abertas em comparação com as fechadas; nestas últimas, a herbivoria demonstrou ter um efeito importante, sendo cerca de dez vezes maior nestes locais em comparação com as primeiras.

De forma semelhante ao verificado para a amostra de *D. plagiogramma* coletada em Atol das Rocas, a presença de compostos contendo enxofre apenas no extrato DJ-I (entre os demais da espécie *D. jolyana*), pode estar relacionado às características do próprio local de coleta. Diferentemente dos demais pontos de coleta, a praia do Atalaia em Fernando de Noronha apresenta recifes formando piscinas naturais de baixa profundidade durante os períodos de maré baixa (Figura 14-A). Esta característica confere certas particularidades a este local, em relação às áreas de mar aberto, favorecendo maior pressão por parte dos peixes herbívoros, temperaturas mais elevadas durante a maré baixa,

maior exposição ao sol e soterramento por areia com mar mais revolto. Em fotografias retiradas neste local (Figura 14-B) é possível observar a presença da espécie *D. jolyana* junto a diversos peixes herbívoros se alimentando de outras espécies de algas.

Figura 14. Praia do Atalaia em Fernando de Noronha (A e B) e piscina do Cemitério em Atol das Rocas (C e D).



Fonte: Imagens cedidas pelo Prof. Sérgio Floeter (UFSC) e Marina Sissini (UFSC).

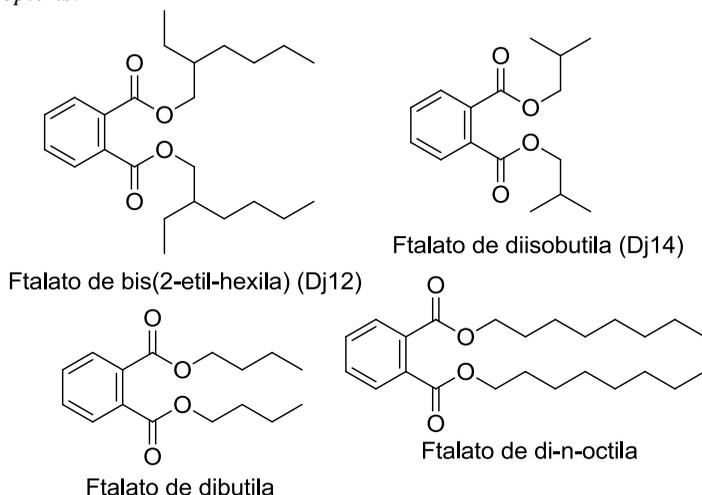
Diferentemente dos dois pontos de coleta já discutidos (Atalaia em Fernando de Noronha e Piscinas Cemitério em Atol das Rocas), Cabras (Fernando de Noronha) apresenta características bastante diversas, caracterizada pela maior profundidade (amostras coletadas em torno de 12 e 18 metros) e hidrodinamismo. Em teoria, tais características contribuiriam para menor pressão de herbivoria. No entanto, a detecção destes compostos sugere a existência de algum fator exercendo influência sobre a produção dos mesmos. De acordo com relatos de pesquisadores que estiveram naquele local, há uma grande quantidade do peixe herbívoro *Kyphosus* (pirajica), o qual poderia estar contribuindo para a produção destes compostos.

#### 4.1.2 Caracterização da presença de derivados de ácido ftálico

Por meio da análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , UFLC-ESI-EM e CCD, foi possível observar a presença de ftalatos em todos os extratos de *D. jolyana* e *D. plagiogramma*. Em CCD, estes compostos foram caracterizados pela coloração roxa-azulada após revelação com solução acidificada de anisaldeído, com extinção de fluorescência em 254 nm. Em RMN de  $^1\text{H}$  estes compostos foram detectados por meio dos sinais característicos de hidrogênios de anel aromático pertencentes a um sistema 1,2 dissubstituído, exibindo duplos dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,71 e  $\delta_{\text{H}}$  7,53, além de sinais de O-CH- (multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  4,23 ou duplete em  $\delta_{\text{H}}$  4,09) (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007). Já em UFLC-ESI-EM, estes compostos foram caracterizados por meio do perfil de fragmentação e/ou utilização de compostos isolados neste trabalho como padrões.

Por meio dos cromatogramas apresentados nas Figuras 12 e 13, pode-se observar a presença dos compostos Dj12 e/ou Dj14 em todos os extratos analisados. Além disso, foi possível detectar a existência de picos em 7,3 min (**2**) (DJ-IV, DJ-VI, DJ-VII, DJ-VIII, DJ-IX e DJ-X), 14,0 min (**3**) (DP-VIII e DP-IX) e 14,2 min (**4**) (DP-V) com massas de 279,1570  $m/z$ , 391,2838  $m/z$  e 391,3008  $m/z$ , indicando tratar-se de isômeros dos compostos Dj12 e Dj14. Por meio da busca na literatura, pode-se sugerir que os dois primeiros picos tratam-se do ftalato de dibutila ( $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{O}_4$ , massa calculada de  $m/z$  279,1596) e ftalato de di-n-octila ( $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{O}_4$ , massa calculada de  $m/z$  391,2848) (Figura 15).

Figura 15. Derivados de ácido ftálico identificados e sugeridos nos extratos de *Dictyopteris*.



Na literatura há diversas discussões quanto à origem de ftalatos em produtos naturais, especialmente em algas marinhas. Vários estudos têm demonstrado a presença de ftalatos em extratos de algas verdes, vermelhas e pardas. Lhullier (2005) isolou da alga vermelha *Pterocladia capillacea* coletada no litoral catarinense o ftalato de di(2-etil) hexila. Lira (2013) isolou o ftalato de di-isobutila da alga vermelha *Bryothamnion triquetrum* coletada no litoral da Paraíba. Outro estudo identificou diversos ftalatos (ftalato de dietila, ftalato de dibutila, ftalato de bis(2-etil-hexila), ftalato de diciclo-hexila e ftalato de diisobutila) nas algas vermelhas *Laurencia filiformis*, *L. intricata*, *Plocamium brasiliense* e *Ochtodes secundiramea* coletadas no litoral do Espírito Santo (GRESSLER et al., 2010). O ftalato de bis(2-etil-nonila) foi isolado da alga vermelha *Acanthophora spicifera* (WAHIDULLA; D'SOUZA; GOVENKER, 1998). Ftalato de dioctila foi isolado da alga parda *Sargassum wightii*, sendo considerado o responsável pela atividade antibacteriana do extrato (SASTRY; RAO, 1995). Ftalatos de dibutila e di-isobutila foram isolados da alga *Chaetomorpha basiretorsa* (SHI et al., 2005).

Na indústria química, os ésteres do tipo ftalato são amplamente empregados como plastificantes ou solventes, e comumente encontrados como poluentes no solo, sedimentos, água do mar e em organismos vivos (NAMIKOSHI et al., 2006). Dessa forma, alguns estudos têm sido

realizados para determinar se estes compostos: a) seriam produzidos pelo próprio organismo; b) seriam resultado de produtos de contaminação adquiridos durante a extração ou o fracionamento; ou c) se encontram acumulados no organismo devido a contaminação da água do mar.

No presente trabalho, a presença de ftalatos em todos os extratos (e considerando que o solvente utilizado para preparação da maioria dos mesmos foi destilado) indica fortemente que tais substâncias possam ser originadas do metabolismo destas algas ou da contaminação ambiental. Considerando a primeira hipótese, alguns estudos já demonstraram a capacidade destes organismos de produzir ftalatos, porém ainda não se sabe exatamente o papel fisiológico dos mesmos. Há indícios de que eles são armazenados na membrana celular e afetam a flexibilidade da célula (NAMIKOSHI et al., 2006).

Chen (2004) cultivou, em laboratório, filamentos da alga vermelha *Bangia atropurpurea* em dois ambientes: água do mar artificial (livre de contaminação) e água do mar natural, em meio enriquecido com  $^{14}\text{C}$  (na forma de  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ ). Os resultados dos ensaios demonstraram que a alga foi capaz de sintetizar ftalato de di-(2-etil)-hexila e di-n-butila a partir da utilização do  $^{14}\text{C}$  do meio e não seriam, portanto, provenientes de contaminação (ftalatos de origem industrial possuem baixíssimas quantidades de  $^{14}\text{C}$ , as quais não podem ser detectadas mesmo com a utilização de métodos bastante sensíveis). Outro estudo, realizado com as algas pardas *Undaria pinnatifida* e *Laminaria japonica* e a alga verde *Ulva* sp., revelou a capacidade destas em produzir o ftalato de di-(2-etil-hexila), baseado também na análise da abundância de  $^{14}\text{C}$  (NAMIKOSHI et al., 2006).

Estudos também têm apontado para a capacidade de microplásticos serem adsorvidos na superfície das algas. Sundbaek et al. (2018) demonstraram a adsorção de microplástico fluorescente de poliestireno à superfície da macroalga comestível *Fucus vesiculosus*. De acordo com Bhattacharya et al. (2010), esta adsorção pode causar impactos na fotossíntese, possivelmente pelo bloqueio físico da luz e do fluxo de ar, levando à produção de espécies reativas de oxigênio. Dessa forma, a identificação de ftalatos em *Dictyopteris* pode ser indicativa de uma grave situação ambiental nestas ilhas, a qual se reflete no âmbito ecológico. Recentemente, um artigo de revisão publicado por Monteiro, Ivar do Sul e Costa (2018) mostrou o panorama da poluição por plásticos em ilhas no oceano Atlântico. Os dados demonstraram que todas as ilhas oceânicas brasileiras pesquisadas (Fernando de Noronha, São Pedro e São Paulo e Trindade) apresentavam contaminação por micro- e

macroplásticos, sendo a ilha da Trindade e São Pedro e São Paulo as mais afetadas. Especificamente em relação a Fernando de Noronha, o trabalho realizado por Ivar do Sul, Spengler e Costa (2009) demonstrou a presença de fragmentos de plástico e grânulos plásticos virgens em várias praias do arquipélago, como, por exemplo, Atalaia, Sueste e Porto, que foram pontos de coleta de algas para esta tese. O Atol das Rocas também foi alvo de contaminação por plásticos, conforme estudo publicado por Soares et al. (2011).

A origem destes plásticos ainda é incerta, no entanto, algumas hipóteses foram elaboradas. A existência de grânulos plásticos virgens aponta principalmente para a ação das correntes marítimas no transporte destes detritos a longas distâncias, uma vez que não há indústria de plástico nestes locais e, com exceção de Fernando de Noronha, as demais ilhas não são habitadas. Além disso, a presença de grandes quantidades de detritos plásticos em Trindade e São Pedro e São Paulo pode ser relacionada às atividades de pesca bastante comuns nestes locais ou outras atividades marítimas, como cruzeiros (MONTEIRO; IVAR DO SUL; COSTA, 2018; IVAR DO SUL; SPENGLER; COSTA, 2009; IVAR DO SUL; COSTA; FILLMANN, 2014).

Com a finalidade de associar a contaminação do mar e a presença de ftalatos em extratos de algas, Gezgin, Güven e Akçin (2001) demonstraram que a presença de alguns tipos de ftalatos (ftalato de dietila, dibutila, di-isobutila e dietilhexila) em algas marinhas coletadas no estreito de Bósforo (Turquia) era devida à contaminação da água do mar naquele local.

#### 4.2 ESTUDO QUÍMICO DO EXTRATO DJ-I

O extrato DJ-I foi o primeiro a ser fracionado, devido à maior quantidade de material disponível (23,51 g). Inicialmente o extrato foi submetido a um fracionamento que resultou no isolamento de alguns compostos, conforme Figuras 17 e 18. Objetivando resolar alguns compostos minoritários, bem como purificar novos, algumas frações não puras resultantes do fracionamento inicial foram reunidas e submetidas a um novo esquema cromatográfico, conforme apresentado na Figura 19. A descrição detalhada dos procedimentos cromatográficos adotados em cada uma das etapas pode ser encontrada no Apêndice A.

A partir do fracionamento do extrato DJ-I foram isoladas 26 substâncias, denominadas de Dj1 a Dj26 (Tabela 2). Destas, 17 substâncias tiveram sua estrutura determinada (Figura 16), sendo dez identificadas como compostos derivados de C<sub>11</sub> contendo enxofre em

sua estrutura (Dj1, Dj5, Dj7, Dj9, Dj11, Dj13, Dj16, Dj17, Dj18, Dj26); além de dois tocoferóis:  $\alpha$ -tocoferol (Dj15) e  $\gamma$ -tocoferol (Dj20), bem como o derivado oxidado  $\alpha$ -tocoferol quinona (Dj25); o esteroide fucosterol (Dj9); o diterpeno fitol (Dj21); dois ftalatos: ftalato de bis(2-etil-hexila) (Dj12) e ftalato de di-isobutila (Dj14). Todos estes compostos foram isolados pela primeira vez desta espécie, uma vez que não há estudos químicos envolvendo a mesma. O composto Dj15 foi isolado pela primeira vez no gênero, enquanto o composto Dj18 foi relatado pela primeira vez como produto natural e os compostos Dj7, Dj9, Dj11 e Dj26 são inéditos na literatura.

A estrutura dos compostos Dj22 e Dj23 ainda não foi totalmente elucidada, no entanto, os dados sugeriram tratar-se de outros dois novos compostos do tipo  $C_{11}$  contendo enxofre, conforme descrito ao longo do texto. O composto Dj6 apresentou um perfil muito semelhante aos tocoferóis, no entanto sua estrutura também não foi totalmente determinada. Os compostos Dj3, Dj4 e Dj8 foram identificados como ácidos graxos insaturados, e o composto Dj10 como triglicérido. Os compostos Dj2 e Dj24 não foram identificados. Em alguns casos, é necessária ainda purificação adicional e/ou obtenção de maior quantidade de material para aquisição de espectros complementares.

Tabela 2. Compostos isolados do extrato DJ-I.

Substância	Identificação	Quantidade (mg)
Dj1	bis( <i>E</i> )-(3-oxo-undec-4-enil)dissulfeto	92,0
Dj2	N.I.	3,8
Dj3	Ácido graxo insaturado	6,8
Dj4	Ácido graxo insaturado	48,0
Dj5	( <i>E</i> )-1-(5-metil-3-oxo-undecil)dissulfanilundec-4-en-3-ona	21,3
Dj6	N.I.	8,5
Dj7	( <i>E</i> )-1-(metildissulfanil)undec-4-en-3-ona	6,1
Dj8	Ácido graxo insaturado	13,1
Dj9*	bis( <i>E</i> )-(3-oxo-undec-4-enil)trissulfeto	4,0
Dj10	Triglicerídeo	13,9
Dj11	(4 <i>E</i> )-1-[(3-oxo-1-[(4 <i>E</i> )-3-oxoundec-4-en-1-il]disulfanil]undecan-5-il]disulfanil]undec-4-en-3-ona	5,7
Dj12	Ftalato de bis(2-etil-hexila)	7,9
Dj13	3-hexil-4,5-ditiacicloheptanona	46,1
Dj14	Ftalato de di-isobutila	9,2
Dj15	$\alpha$ -tocoferol	7,3
Dj16	2-hexil-tetrahidrotiopiran-4-ona	1,2
Dj17	( <i>E</i> )-1-(3-oxo-undecil)-dissulfanilundec-4-en-3-ona	9,4
Dj18*	( <i>E</i> )-1-(metil-3-oxo-undecil)undec-4-en-3-ona	0,6
Dj19	Fucoesterol	15,8
Dj20	$\gamma$ -tocoferol	4,9
Dj21*	Fitol	8,1
Dj22	C <sub>11</sub> contendo enxofre N.I.	3,3
Dj23	C <sub>11</sub> contendo enxofre N.I.	2,5
Dj24	N.I.	3,4
Dj25	$\alpha$ -tocoferol quinona	2,1
Dj26*	1-(metildissulfanil)-5-(metil-3-oxo-undecil)undecan-3-ona	5,9

N.I. = Não identificado.

\* Composto não puro.

Figura 16. Estrutura dos compostos isolados e identificados do extrato DJ-I.

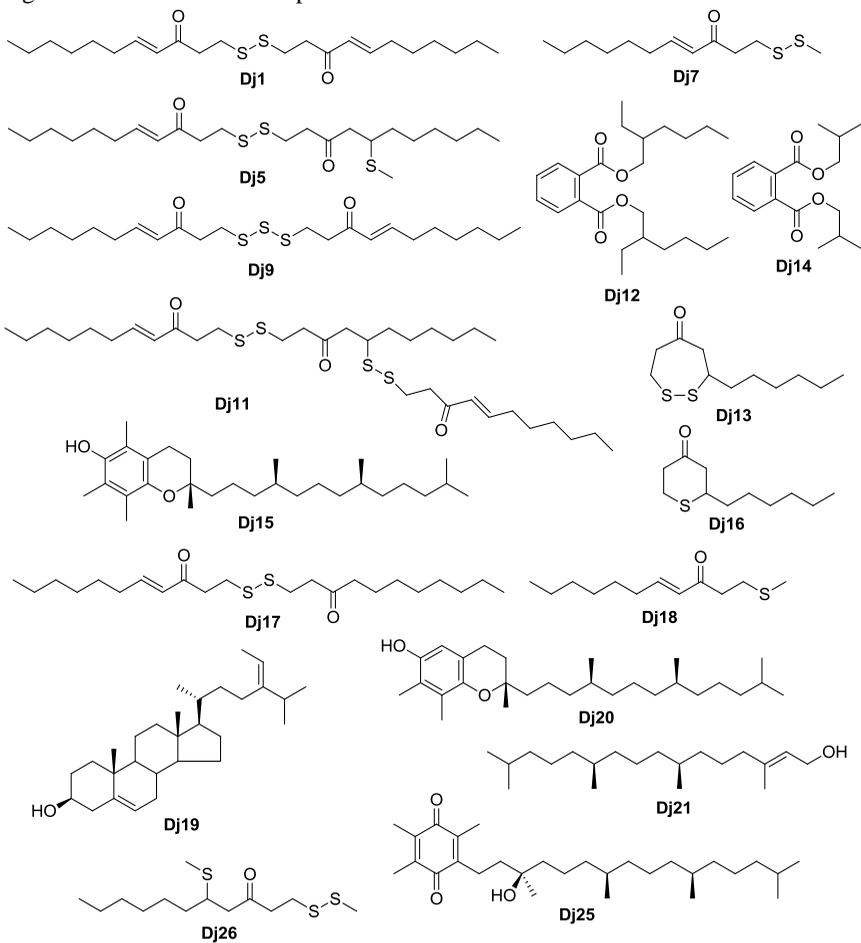
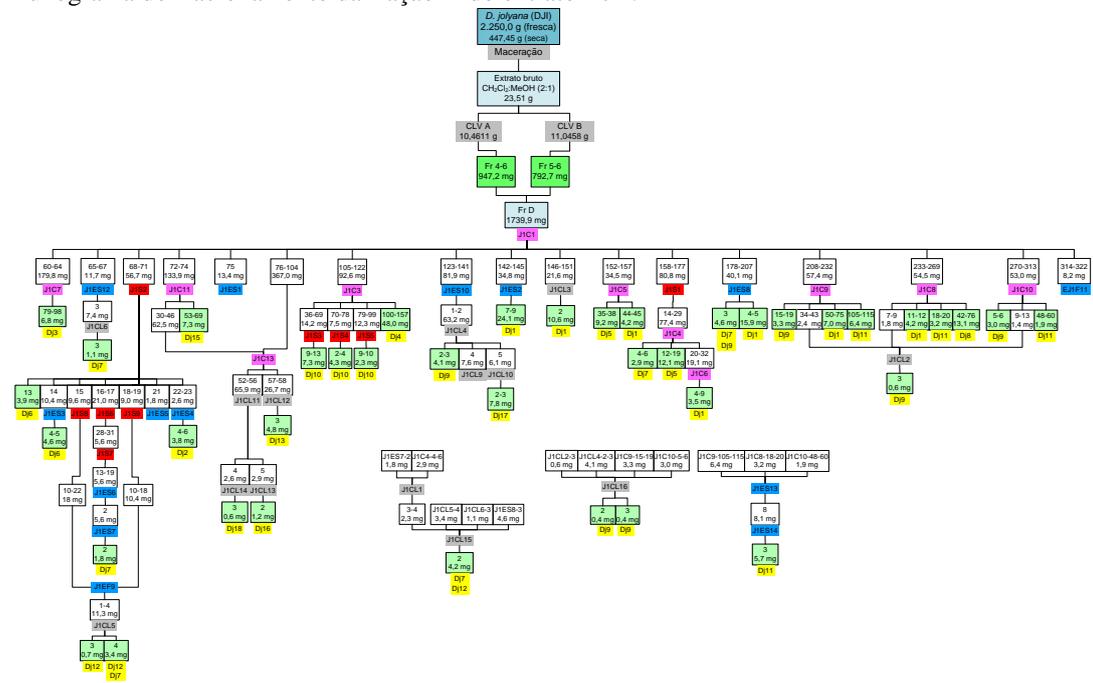
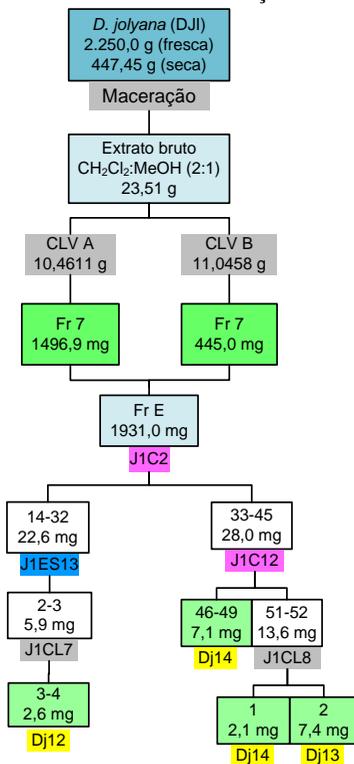


Figura 17. Fluxograma do fracionamento da fração **D** do extrato DJ-I.



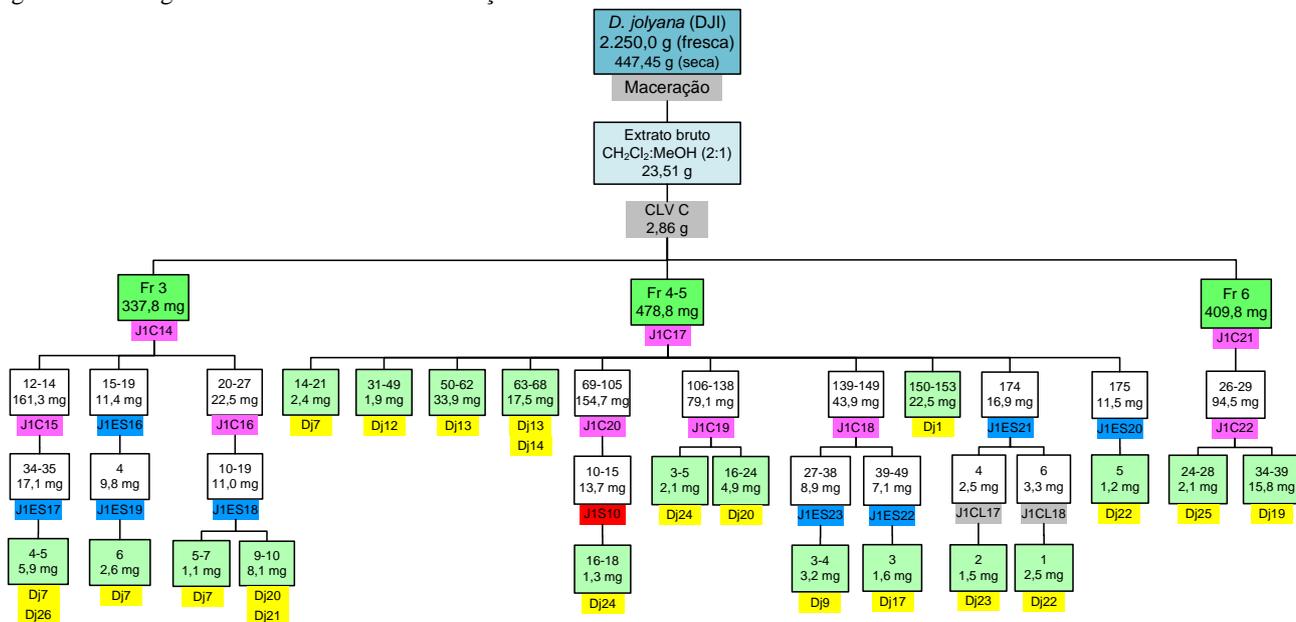
\* As frações que não resultaram em compostos isolados não estão representadas. JIC (rosa): Cromatografia em coluna aberta; JIS (vermelho): Cromatografia em coluna utilizando resina Sephadex®; JIES (azul): Extração em fase sólida; JICL (cinza): Cromatografia líquida de alta eficiência; CLV (cinza): Cromatografia líquida a vácuo.

Figura 18. Fluxograma do fracionamento da fração E do extrato DJ-I.



\* As frações que não resultaram em compostos isolados não estão representadas.  
 JIC (rosa): Cromatografia em coluna aberta; JIES (azul): Extração em fase sólida; J1CL (cinza): Cromatografia líquida de alta eficiência; CLV (cinza): Cromatografia líquida a vácuo.

Figura 19. Fluxograma do fracionamento das frações reunidas do extrato DJ-I.



\* As frações que não resultaram em compostos isolados não estão representadas. JIC (rosa): Cromatografia em coluna aberta; JIES (azul): Extração em fase sólida; JICL (cinza): Cromatografia líquida de alta eficiência; CLV (cinza): Cromatografia líquida a vácuo.

## 4.2.1 Substâncias isoladas

### 4.2.1.1 Compostos do tipo C<sub>11</sub> contendo enxofre

#### 4.2.1.1.1 Substância Dj1

Dj1 foi obtida como um óleo de coloração levemente amarelada das frações J1C5-44-45, J1C6-4-9, J1C8-11-12, J1C9-50-75, J1ES2-7-9, J1ES8-4-5, J1CL3-2 e J1C17-150-153, com rendimento total de 92,0 mg, conforme esquema apresentado na Figura 17.

Apresenta-se na CCD como uma mancha com Rf 0,3 em n-Hex:AcOEt (97:3, v/v), com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor marrom.

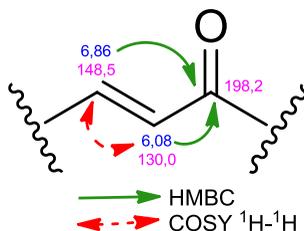
O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 24 e Tabela 3) indicou a presença de metila com ressonância em  $\delta_H$  0,86 (3H, t,  $J = 6,6$  Hz), característica de grupo terminal de cadeia alifática. Foi verificada também a presença de três metilenos sobrepostos, ressonando entre  $\delta_H$  1,28 – 1,29 (6H, m), um metileno em  $\delta_H$  1,44 (2H, m), um metileno em  $\delta_H$  2,20 (2H, pq,  $J = 6,9$  Hz) e dois metilenos mais desblindados, com deslocamento de  $\delta_H$  2,93 (2H, m) e  $\delta_H$  2,95 (2H, m). Adicionalmente, dois sinais mais desprotegidos ressonando em  $\delta_H$  6,08 (1H, dt,  $J = 16,0$ , 1,6 Hz) e  $\delta_H$  6,86 (1H, dt,  $J = 16,0$ , 6,9 Hz), indicativos de hidrogênios olefínicos. O valor de constante de acoplamento de 16,0 Hz é coerente com configuração geométrica *trans* (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C (Figura 25) apresentou 11 sinais de carbono. De acordo com o experimento de DEPT 135 (Figura 26), estes sinais podem ser atribuídos a uma metila ( $\delta_C$  14,0), sete metilenos ( $\delta_C$  22,5,  $\delta_C$  27,9,  $\delta_C$  28,8,  $\delta_C$  31,5,  $\delta_C$  32,0,  $\delta_C$  32,5 e  $\delta_C$  39,2), dois metinos olefínicos ( $\delta_C$  130,0 e  $\delta_C$  148,5) e um carbono quaternário ( $\delta_C$  198,2), sendo este último característico de carbonila de grupamento cetona.

Os mapas de correlação heteronuclear HSQC (Figura 27) e HMBC (Figura 28), e homonuclear COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (Figura 29) também foram obtidos para esta substância, auxiliando na determinação da sua estrutura e atribuição dos sinais. Por meio do mapa de correlação HSQC foi possível determinar que os hidrogênios em  $\delta_H$  6,86 (1H, dt,  $J = 16,0$ , 6,9 Hz, H-5,5') e  $\delta_H$  6,08 (1H, d,  $J = 16,0$  Hz, H-4,4') estão ligados diretamente aos carbonos em  $\delta_C$  148,5 (C-5,5') e  $\delta_C$  130,0 (C-4,4'), respectivamente. Os mapas de HMBC e COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H indicaram que estes hidrogênios apresentam correlação entre si e com o carbono correspondente à carbonila em  $\delta_C$  198,2 (C-3,3'), indicando tratar-se de

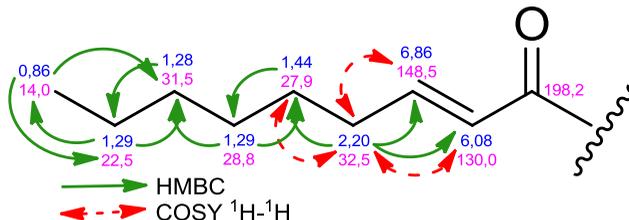
carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada, conforme Figura 20. Neste caso, por conta do efeito de ressonância, o hidrogênio e o carbono em posição  $\beta$  se encontram mais desblindados (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

Figura 20. Primeira estrutura parcial referente à carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada da substância Dj1 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



Adicionalmente, por meio da observação dos mapas de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ , verificou-se que estes hidrogênios olefínicos em  $\delta_{\text{H}}$  6,86 e  $\delta_{\text{H}}$  6,08 apresentam correlação com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  2,20 (2H, pq,  $J = 6,9$  Hz), os quais estão ligados diretamente ao carbono ressonando em  $\delta_{\text{C}}$  32,5 (C-2,2'), segundo o mapa de HSQC. Dessa forma, foi possível propor a continuidade da cadeia alifática, composta pelo metileno em  $\delta_{\text{H}}$  1,44 (2H, m, H-7,7'), pelos hidrogênios metilênicos sobrepostos ressonando entre  $\delta_{\text{H}}$  1,28 –  $\delta_{\text{H}}$  1,29 (6H, m, H-8,8' a H-10,10') e a metila terminal em  $\delta_{\text{H}}$  0,86 (3H, t, 6,6 Hz, H-11,11') conforme Figura 21.

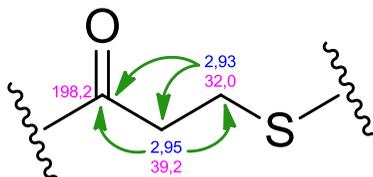
Figura 21. Segunda estrutura parcial referente à cadeia alifática da substância Dj1 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



Os hidrogênios dos metilenos em  $\delta_{\text{H}}$  2,93 (2H, m, H-1,1') e  $\delta_{\text{H}}$  2,95 (2H, m, H-2,2') apresentam correlação direta com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  32,0 (C-1,1') e  $\delta_{\text{C}}$  39,2 (C-2,2') pelo mapa de HSQC, bem como

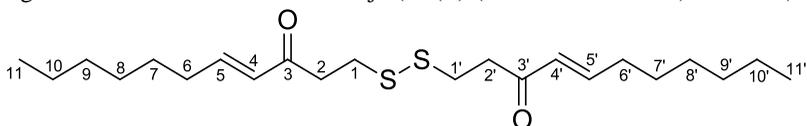
correlação entre si e com o carbono da carbonila em  $\delta_C$  198,2 (C-3,3') no mapa de HMBC. No entanto, os deslocamentos químicos apresentados por estes metilenos, aliados à inexistência de outras correlações nos mapas de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ , sugeriram a presença de heteroátomo menos eletronegativo que o oxigênio ( $\chi = 3,5$ ), como, por exemplo, o enxofre ( $\chi = 2,5$ ). Neste caso, o efeito sobre a nuvem eletrônica destes metilenos será reduzida, não produzindo grande incremento sobre o deslocamento químico (Figura 22) (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

Figura 22. Terceira estrutura parcial referente à ligação ao enxofre da substância Dj1 com as correlações verificadas no mapa de HMBC.



Com base nestas estruturas parciais propostas, foi realizada uma busca na literatura para compostos com perfis espectroscópicos semelhantes, encontrando-se grande similaridade com um grupo singular de dissulfetos, notadamente para a substância bis(*E*)-(3-oxo-undec-4-enil)dissulfeto (Figura 23) (DIMOU et al., 2016). A presença de dois átomos de enxofre na estrutura está de acordo com os deslocamentos químicos observados, uma vez que o efeito de desblindagem provocado por dois átomos de enxofre na forma de dissulfeto é maior quando comparado a apenas um átomo de enxofre (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

O espectro de massas (Figura 30) também foi obtido para a substância Dj1, e apresentou um íon de  $m/z$  399,2387, referente ao pico do íon molecular  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , outro íon de  $m/z$  421,2134, referente ao aduto de sódio  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , e outro íon de  $m/z$  819,4715, referente ao respectivo agregado iônico (*ion cluster*)  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ . O primeiro íon apresentou massa compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{O}_2\text{S}_2$  (calculado  $m/z$  399,2391), e índice de insaturação igual 4, correspondente às duas ligações duplas e às duas carbonilas.

Figura 23. Estrutura da substância Dj1 (bis(*E*)-(3-oxo-undec-4-enil)dissulfeto).

Até o momento, esta substância somente foi reportada para a espécie *D. polydoides* (DIMOU et al., 2016). Neste trabalho publicado por Dimou e colaboradores (2016), esta substância (composto 1) foi avaliada contra cepas de *Staphylococcus aureus* multirresistente a medicamentos (SA1199B) e resistente à metilina (EMRSA-15), porém mostrou-se inativa e também não apresentou capacidade de inibir a produção de NO em modelo utilizando macrófagos estimulados por LPS.

Tabela 3. Dados espectrais de RMN da substância Dj1 obtidos no presente trabalho, em comparação com a literatura para a substância bis(*E*)-(3-oxo-undec-4-enil)dissulfeto.

Posição	Dj1 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )				Composto 1, Dimou et al., 2016 (400/100 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	
	δ <sub>H</sub> (mult., J Hz)	δ <sub>C</sub>	HMBC	COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H	δ <sub>H</sub> (mult., J Hz)	δ <sub>C</sub>
1, 1´	2,93 (2H, m)	32,0	39,2; 198,2	-	2,90 (2H, m)	32,2
2, 2´	2,95 (2H, m)	39,2	32,0; 198,2	-	2,96 (2H, m)	39,3
3, 3´	-	198,2	-	-	-	198,2
4, 4´	6,08 (1H, dt, 16,0; 1,6)	130,0	32,5; 198,2	6,86; 2,20	6,09 (1H, d, 15,8)	130,1
5, 5´	6,86 (1H, dt 16,0; 6,9)	148,5	27,9; 32,5; 198,2	2,20; 6,08	6,86 (1H, dt, 15,8; 7,1)	148,5
6, 6´	2,20 (2H, pq, 6,9)	32,5	27,9; 130,0; 148,5	6,86; 1,44; 6,08	2,20 (2H, q, 7,1)	32,5
7, 7´	1,44 (2H, m)	27,9	28,8	2,20	1,44 (2H, m)	28,0
8, 8´	1,29 (2H, m)	28,8	27,9; 31,5	-	1,27 (2H, m)	28,9
9, 9´	1,28 (2H, m)	31,5	22,5	-	1,26 (2H, m)	31,6
10, 10´	1,29 (2H, m)	22,5	14,0; 31,5	0,86	1,28 (2H, m)	22,5
11, 11´	0,86 (3H, t, 6,6)	14,0	22,5; 31,5	1,28	0,87 (3H, t, 6,7)	14,0

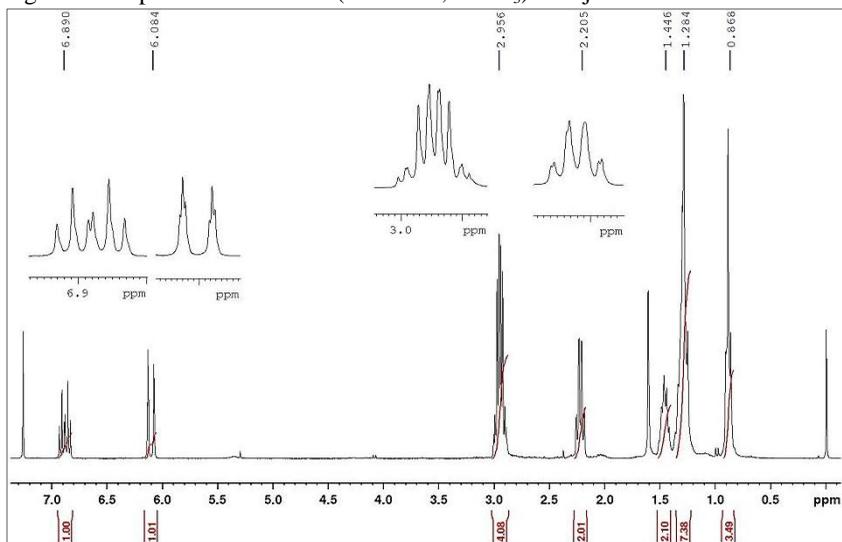
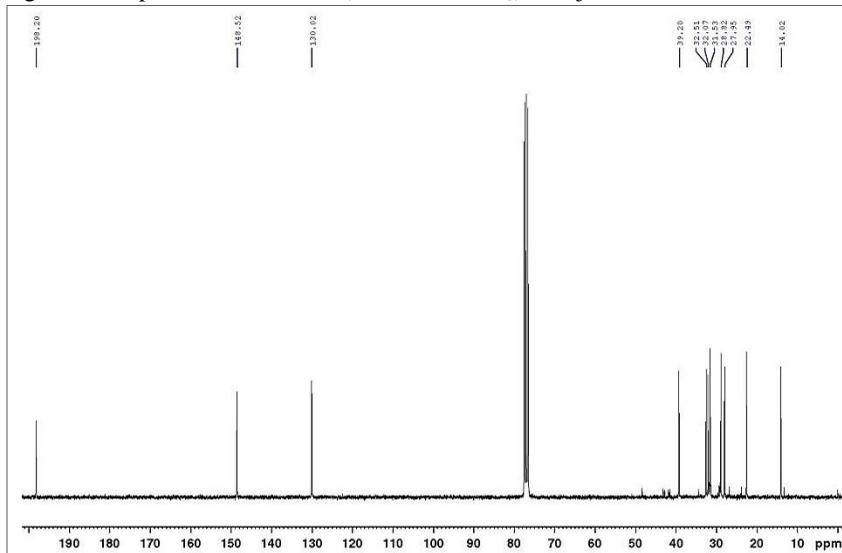
Figura 24. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj1.Figura 25. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj1.



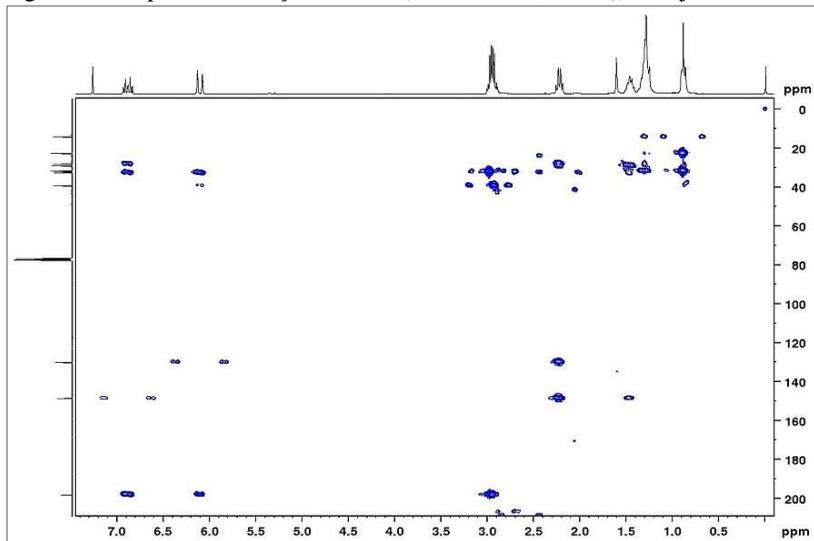
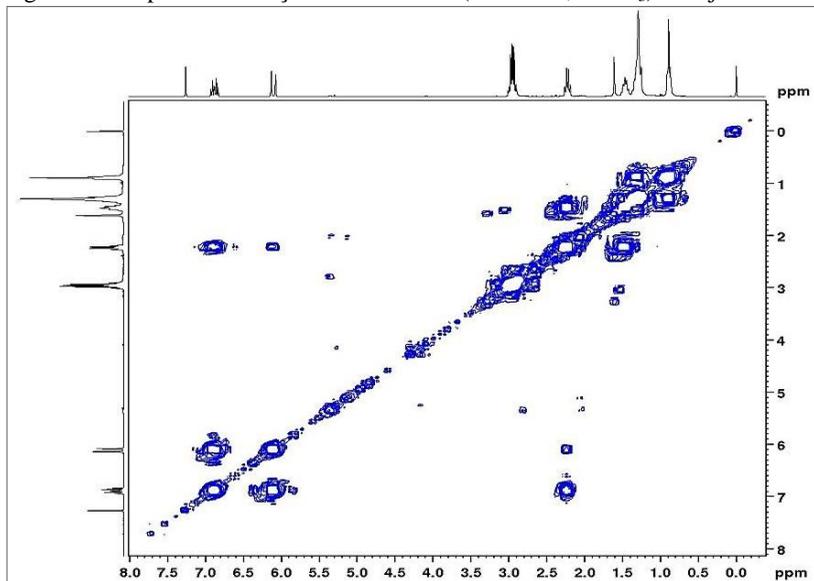
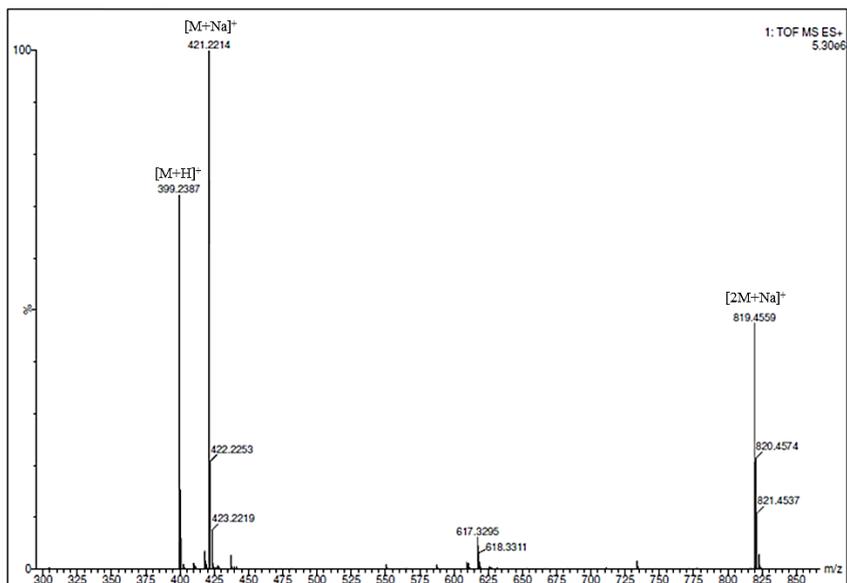
Figura 28. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj1.Figura 29. Mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj1.

Figura 30. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj1 obtido por [ESI(+)-EMAR].



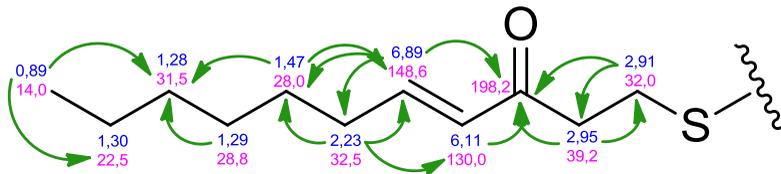
#### 4.2.1.1.2 Substância Dj5

Dj5 foi obtida como um óleo de coloração levemente amarelada das frações J1C4-12-19 e J1C5-35-38, com rendimento total de 21,3 mg, conforme esquema apresentado na Figura 17.

Apresenta-se na CCD em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 %) como uma mancha com R<sub>f</sub> 0,8 que exingue a fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor marrom.

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 36 e Tabela 4) apresentou sinais semelhantes aos da substância Dj1, sugerindo a possibilidade de tratar-se de outro dissulfeto. No entanto, o espectro de RMN de <sup>13</sup>C apresentou (Figura 37) 23 sinais de carbono, indicando a ausência de simetria na molécula e um carbono a mais em sua estrutura. A comparação dos dados entre as duas substâncias possibilitou concluir que uma das partes do dissulfeto era idêntica à do “monômero” da substância Dj1, conforme estrutura parcial apresentada na Figura 31.

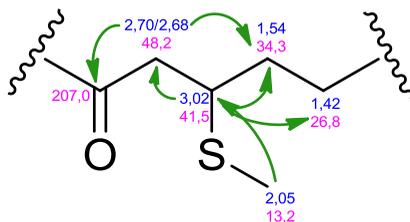
Figura 31. Primeira estrutura parcial referente ao primeiro monômero da substância Dj5 com as correlações verificadas no mapa de HMBC.



A determinação da segunda parte do dissulfeto foi realizada levando-se em conta a presença de sinais correspondentes a um metino desblindado em  $\delta_H$  3,02 (1H, m); uma metila em  $\delta_H$  2,05 (3H, s); uma carbonila ressonando em  $\delta_C$  207,0, indicando a ausência de ligação dupla em posição  $\alpha,\beta$  (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007); e a presença de um átomo de enxofre adicional, sugerido pelo espectro de massas (Figura 40). Este, por sua vez, apresentou um íon de  $m/z$  469,2242, referente ao aduto de sódio  $[M+Na]^+$  e outro íon de  $m/z$  915,4590, referente ao respectivo agregado iônico (*ion cluster*)  $[2M+Na]^+$ . O primeiro íon apresentou massa compatível com a fórmula molecular  $C_{22}H_{42}O_2S_3Na$  (calculado  $m/z$  469,2245), e índice de insaturação igual 3 (uma ligação dupla e duas carbonilas).

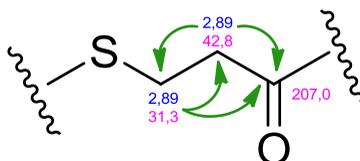
Estes dados permitiram concluir que a diferença em relação a Dj1 incluía a presença de um grupamento  $-SCH_3$ , o qual, segundo o mapa de HMBC (Figura 39), está ligado diretamente ao carbono em  $\delta_C$  41,5 (C-5'). De acordo com o mapa de HSQC (Figura 38), o hidrogênio ligado a este carbono apresenta deslocamento de  $\delta_H$  3,02 (1H, m, H-5'), correlacionando-se com os carbonos em  $\delta_C$  48,2 (C-4'),  $\delta_C$  34,3 (C-6') e  $\delta_C$  26,8 (C-7') no mapa de HMBC. Ainda, conforme o mapa de HSQC, o carbono em  $\delta_C$  48,2 está diretamente ligado a dois hidrogênios não equivalentes (diastereotópicos), os quais ressonam em  $\delta_H$  2,68 (1H, dd, 16,5, 6,4 Hz, H-4') e  $\delta_H$  2,70 (1H, dd, 16,5, 7,6 Hz, H-4'). A constante de acoplamento de 16,5 Hz é indicativa do acoplamento geminal entre estes dois hidrogênios. Observa-se também que ambos correlacionam com a carbonila em  $\delta_C$  207,0 (C-3') no mapa de HMBC. A estrutura parcial proposta está apresentada na Figura 32.

Figura 32. Segunda estrutura parcial referente ao segundo monômero da substância Dj5 com as correlações verificadas no mapa de HMBC.



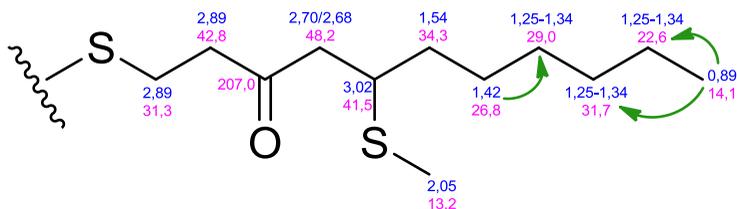
Segundo o mapa de correlação HSQC, os carbonos com deslocamentos em  $\delta_C$  31,3 e  $\delta_C$  42,8 estão ligados a hidrogênios ressonando em  $\delta_H$  2,89 (4H, m, C-1' e C-2'), os quais apresentam também correlação no mapa de HMBC com o carbono em  $\delta_C$  207,0 (C-3'). Da mesma forma já reportada para o composto Dj1, é possível concluir que o carbono em  $\delta_C$  31,3 está diretamente ligado ao enxofre, uma vez que sofre menor efeito de desblindagem da carbonila, conforme Figura 33.

Figura 33. Terceira estrutura parcial referente ao segundo monômero da substância Dj5 com as correlações verificadas no mapa de HMBC.



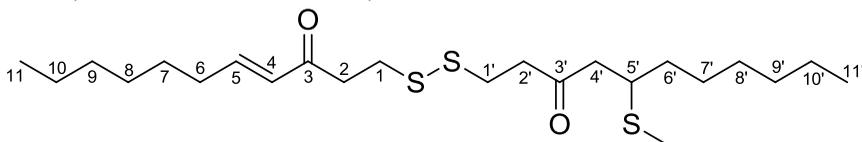
A determinação do restante da cadeia lateral foi realizada com base nas correlações observadas nos mapas de HSQC e HMBC, conforme Figura 34.

Figura 34. Quarta estrutura parcial referente ao segundo monômero da substância Dj5 com as correlações verificadas no mapa de HMBC.



Os dados espectroscópicos foram comparados com aqueles da literatura, sendo possível identificar a substância como o composto (*E*)-1-(5-metiltio-3-oxo-undecil)dissulfanilundec-4-en-3-ona (Figura 35). Tal como a substância Dj1, esta substância foi isolada apenas recentemente da espécie *D. polypodioides* (DIMOU et al., 2016), sendo que não há relatos do seu isolamento em outras espécies. Este constitui, portanto, o segundo relato para este composto.

Figura 35. Estrutura da substância Dj5 ((*E*)-1-(5-metiltio-3-oxo-undecil)dissulfanilundec-4-en-3-ona).



Com relação às atividades biológicas, Dimou e colaboradores (2016) avaliaram a atividade antibacteriana do composto 6 contra cepas de *S. aureus* multirresistente a medicamentos (SA1199B) e resistente à meticilina (EMRSA-15), mas ele foi inativo. Além disso, o composto 6 não inibiu a produção de NO em modelo utilizando macrófagos estimulados por LPS. Nenhum outro relato de avaliação de atividade biológica foi encontrado na literatura pesquisada.

Tabela 4. Dados espectrais de RMN da substância Dj5 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para a substância (*E*)-1-(5-metiltio-3-oxo-undecil)dissulfanilundec-4-en-3-ona.

Posição	Dj5 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )			Composto 6, Dimou et al., 2016 (400/100 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	
	δ <sub>H</sub> (mult., J Hz)	δ <sub>C</sub>	HMBC	δ <sub>H</sub> (mult., J Hz)	δ <sub>C</sub>
1	2,91 (2H, m)	32,0	39,2	2,90 (2H, m)	32,2
2	2,95 (2H, m)	39,2	32,0	2,96 (2H, m)	39,3
3	-	198,2	-	-	198,1
4	6,11 (1H, dt, 16,0; 1,6)	130,0	32,5; 198,2	6,09 (1H, d, 15,8)	130,1
5	6,89 (1H, dt 16,0; 6,9)	148,6	28,0; 32,5; 198,2	6,86 (1H, dt, 15,8; 7,1)	148,5
6	2,23 (2H, pq, 7,2)	32,5	28,0; 130,0; 148,6	2,20 (2H, q, 7,1)	32,5
7	1,47 (2H, m)	28,0	31,5; 148,6	1,44 (2H, m)	28,0
8	1,29 (2H, m)	28,8	31,5	1,27 (2H, m)	28,9
9	1,28 (2H, m)	31,5	-	1,26 (2H, m)	31,6
10	1,30 (2H, m)	22,5	-	1,28 (2H, m)	22,5
11	0,89 (3H, t, 6,7)	14,0	22,5; 31,5	0,87 (3H, t, 6,7)	14,0
1'	2,89 (2H, m)	31,3	42,8; 207,0	2,84 (2H, m)	31,5
2'	2,89 (2H, m)	42,8	31,3; 207,0	2,83 (2H, m)	42,8
3'	-	207,0	-	-	206,9
4'	2,70 (1H, dd, 16,5; 7,6)	48,4	31,3; 34,3; 41,5; 207,0	2,71 (1H, dd, 16,5; 7,5)	48,5
	2,68 (1H, dd, 16,5; 6,4)			2,62 (1H, dd, 16,5; 6,3)	
5'	3,02 (1H, m)	41,5	13,2; 26,8; 48,4; 34,3	3,00 (1H, m)	41,6
6'	1,54 (2H, m)	34,4	26,8; 41,5; 48,4	1,50 (2H, m)	34,5
7'	1,42 (2H, m)	26,8	29,0; 34,3	1,39 (2H, m)	26,8
8'	1,26 (2H, m)	29,0	31,7	1,24 (2H, m)	29,1
9'	1,28 (2H, m)	31,7	22,6	1,26 (2H, m)	31,7
10'	1,27 (2H, m)	22,6	31,7	1,25 (2H, m)	22,6
11'	0,89 (3H, t, 6,7)	14,1	22,6; 31,7	0,86 (3H, t, 6,7)	14,1
SMe	2,05 (3H, s)	13,2	41,5	2,03 (3H, s)	13,3

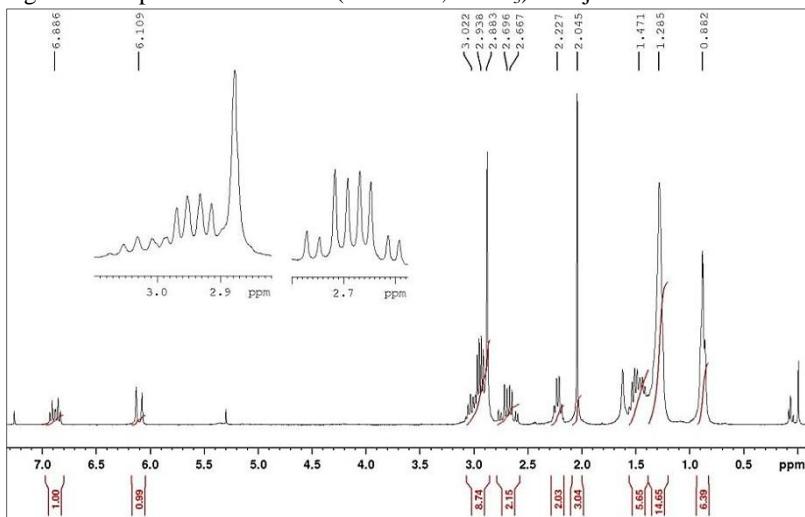
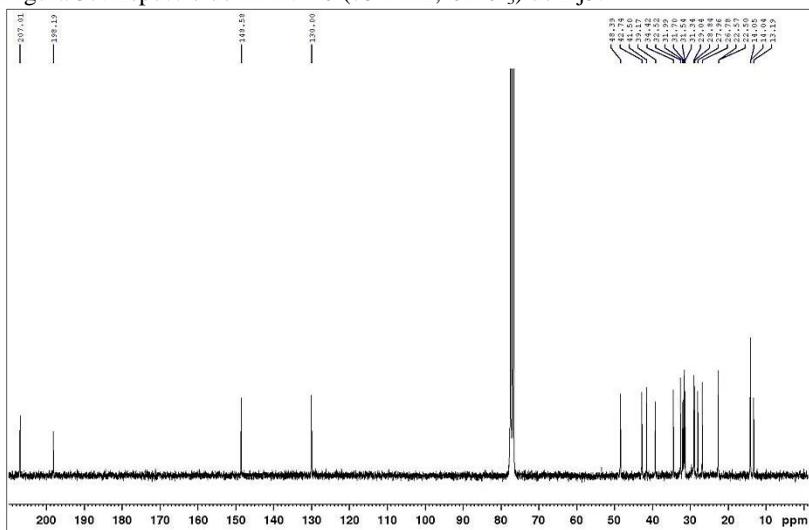
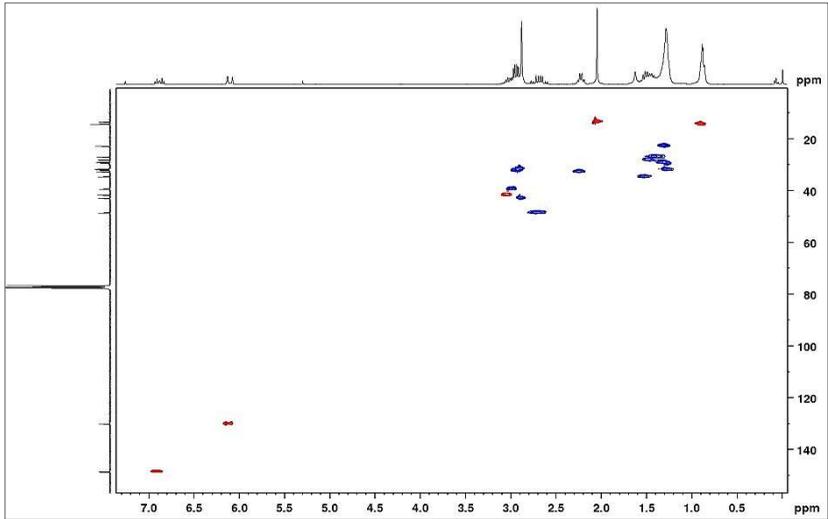
Figura 36. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj5.Figura 37. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj5.

Figura 38. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj5.

\* Sinais em azul correspondem a  $\text{CH}_2$ , sinais em vermelho correspondem a  $\text{CH}$  ou  $\text{CH}_3$ .

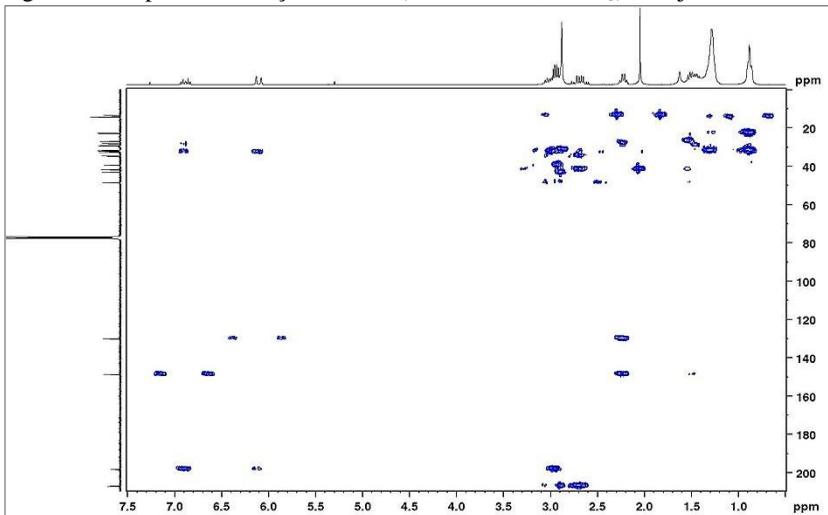
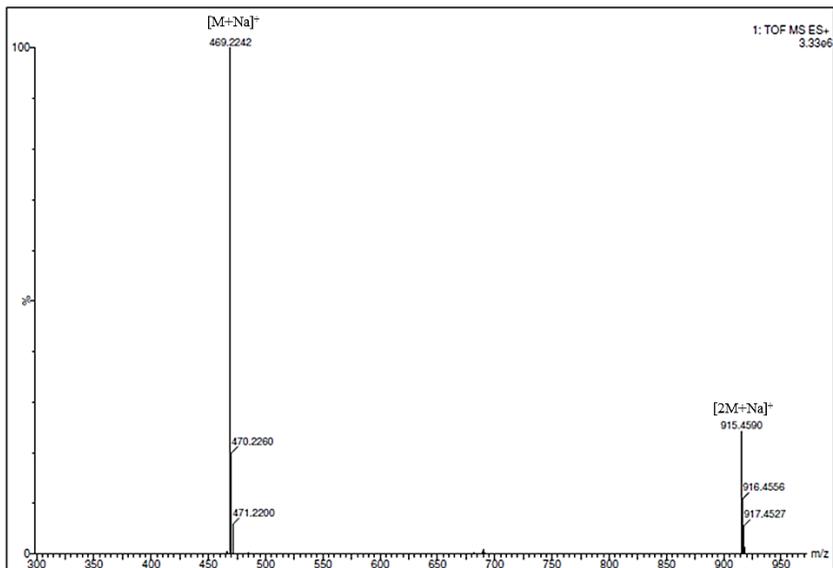
Figura 39. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj5.

Figura 40. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj5 obtido por [ESI(+)-EMAR].



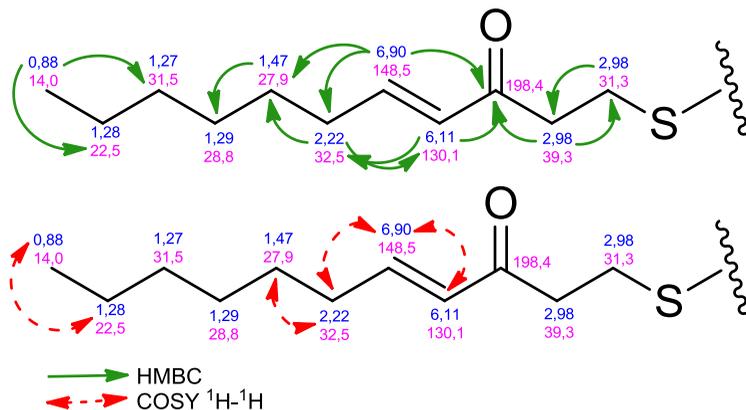
#### 4.2.1.1.3 Substância Dj7

Dj7 foi obtida como um óleo de coloração levemente amarelada das frações J1ES19-6, J1ES18-5-7 e J1C17-14-21, com rendimento total de 6,1 mg, e na forma impura das frações J1CL15 e J1ES17, conforme esquema apresentado nas Figuras 17 e 19.

Apresenta-se na CCD como uma mancha com Rf 0,5 em n-Hex:AcOEt (95:5, v/v), com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor marrom.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 44 e Tabela 5) e  $^{13}\text{C}$  (Figura 45) apresentaram sinais bastante semelhantes aos dissulfetos já descritos anteriormente, sugerindo a possibilidade de tratar-se de outro composto de mesma natureza. Por meio da comparação destes dados, juntamente com os mapas de correlação HSQC (Figura 46), HMBC (Figura 47) e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Figura 48), foi possível determinar que parte da estrutura corresponde exatamente a um monômero da substância Dj1, conforme ilustrado na Figura 41.

Figura 41. Estrutura parcial da substância Dj7 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



No entanto, no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  observou-se a presença de 12 carbonos, com um sinal a mais ressonando em  $\delta_{\text{C}}$  22,9. Adicionalmente, no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  verificou-se a existência de uma metila desblindada em  $\delta_{\text{H}}$  2,40 (3H, s), a qual possui correlação direta com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  22,9 no mapa de HSQC. Os deslocamentos químicos apresentando sugerem a proximidade a um átomo eletronegativo. Segundo a literatura, estes valores são característicos para metilas vicinais a átomos de enxofre, especialmente aqueles formando ligações dissulfeto (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007). Adicionalmente, esta metila não apresentou nenhuma correlação a longa distância no mapa de HMBC. Dessa forma, o conjunto dos dados sugeriu que o presente composto trata-se de um monômero do composto Dj1 ligado a um grupamento  $-\text{SCH}_3$ .

A hipótese estrutural foi confirmada por meio da obtenção dos espectros de massas de alta resolução (ESI(+))EMAR (Figura 49), em que foi possível observar um íon de  $m/z$  247,1217, referente ao pico do íon molecular  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , e outro íon de  $m/z$  269,1049, referente ao pico do íon molecular  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . A massa de  $m/z$  247,1190 é compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{OS}_2$  (calculado  $m/z$  247,1190), e apresenta índice de insaturação igual 2, correspondente à ligação dupla e à carbonila. O perfil de fragmentação foi observado no espectro obtido por CG-EM (IE, 70 eV) (Figura 50), identificando-se alguns íons:  $m/z$  246 (31),  $m/z$  198 (28),  $m/z$

167 (32),  $m/z$  139 (100),  $m/z$  115 (23),  $m/z$  93 (22),  $m/z$  83 (66) e  $m/z$  69 (69). O esquema de fragmentação proposto está apresentado na Figura 43.

Dessa forma, a substância Dj7 foi identificada como (*E*)-1-(metildissulfanil)undec-4-en-3-ona (Figura 42), considerada inédita na literatura.

Figura 42. Estrutura da substância Dj7 ((*E*)-1-(metildissulfanil)undec-4-en-3-ona).

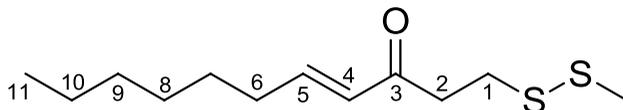


Figura 43. Proposta de fragmentação do composto Dj7 (IE-EM, 70 eV).

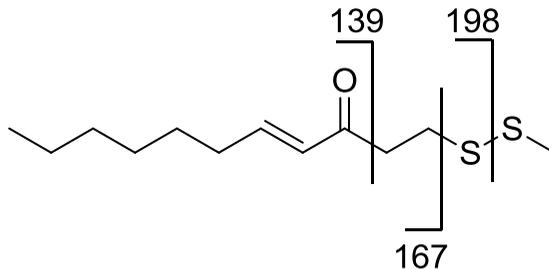


Tabela 5. Dados espectrais de RMN da substância Dj7 obtidos no presente trabalho e em comparação com os dados da substância Dj1.

Posição	Dj7 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )				Dj1 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	
	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$	HMBC	COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$
1	2,97 (2H, m)	<b>31,3</b>	39,2	-	2,93 (2H, m)	<b>32,0</b>
2	2,97 (2H, m)	<b>39,3</b>	31,3; 198,4	-	2,95 (2H, m)	<b>39,2</b>
3	-	198,4	-	-	-	198,2
4	6,11 (1H, dt, 15,8; 1,5)	130,1	32,5; 198,4	6,90	6,08 (1H, d, 16,0)	130,0
5	6,90 (1H, dt 15,8; 6,7)	148,5	27,9; 32,5; 198,4	2,22; 6,11	6,86 (1H, dt 16,0; 6,9)	148,5
6	2,22 (2H, pq, 6,7)	32,5	27,9; 130,1; 148,5	1,47	2,20 (2H, pq, 6,9)	32,5
7	1,47 (2H, m)	27,9	28,8	2,22	1,44 (2H, m)	27,9
8	1,29 (2H, m)	28,8	-	-	1,29 (2H, m)	28,8
9	1,27 (2H, m)	31,5	-	-	1,28 (2H, m)	31,5
10	1,28 (2H, m)	22,5	-	0,88	1,29 (2H, m)	22,5
11	0,88 (3H, t, 6,6)	14,0	22,5; 31,5	1,28	0,86 (3H, t, 6,6)	14,0
S-CH <sub>3</sub>	<b>2,40 (3H, s)</b>	<b>22,9</b>	-	-	-	-

\* Os deslocamentos químicos ( $\delta_H$  e  $\delta_C$ ) diferentes estão destacados em negrito.

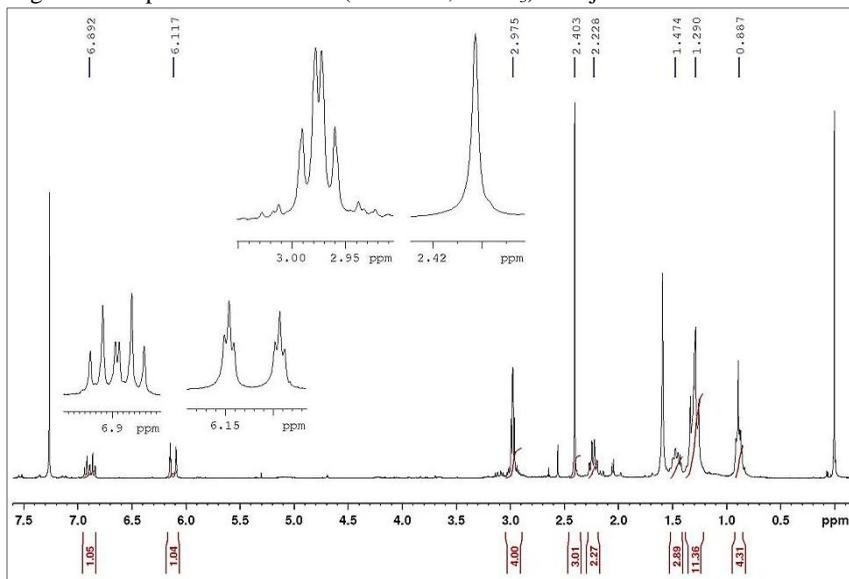
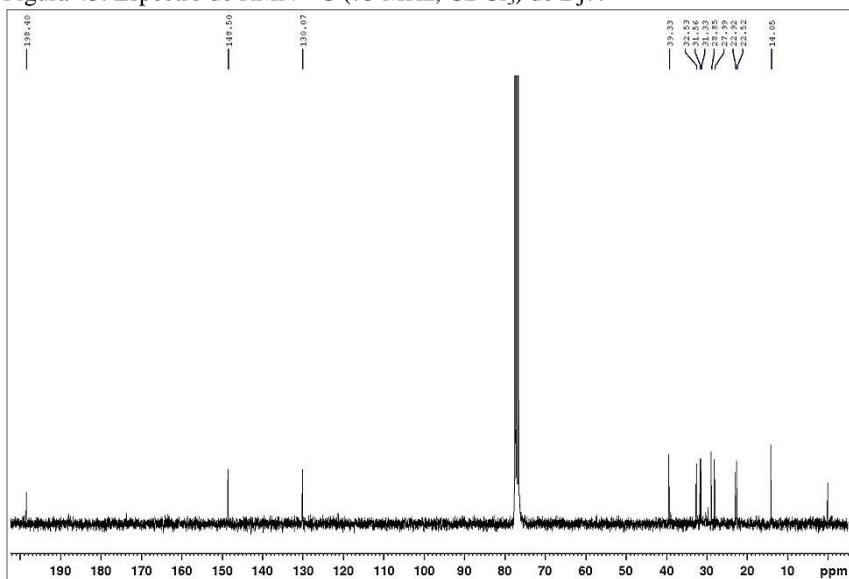
Figura 44. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj7.Figura 45. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj7.

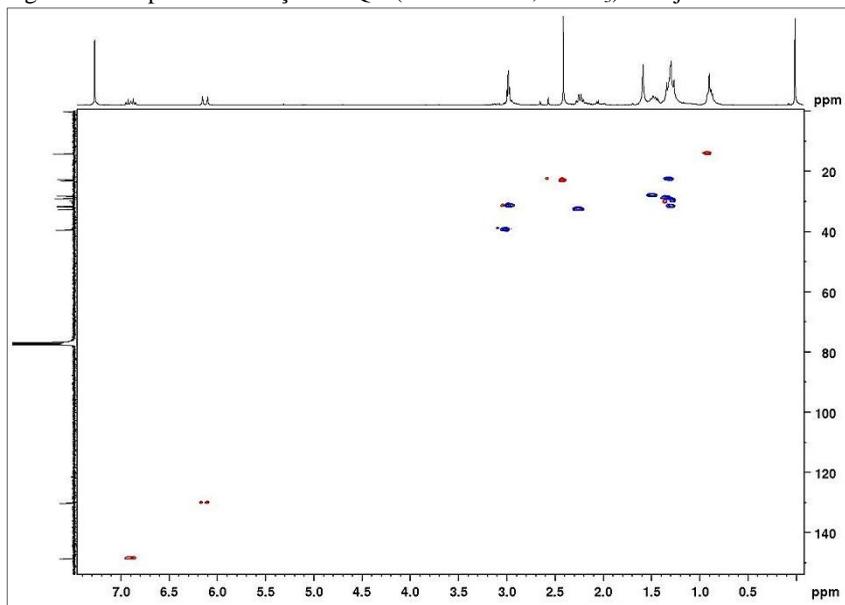
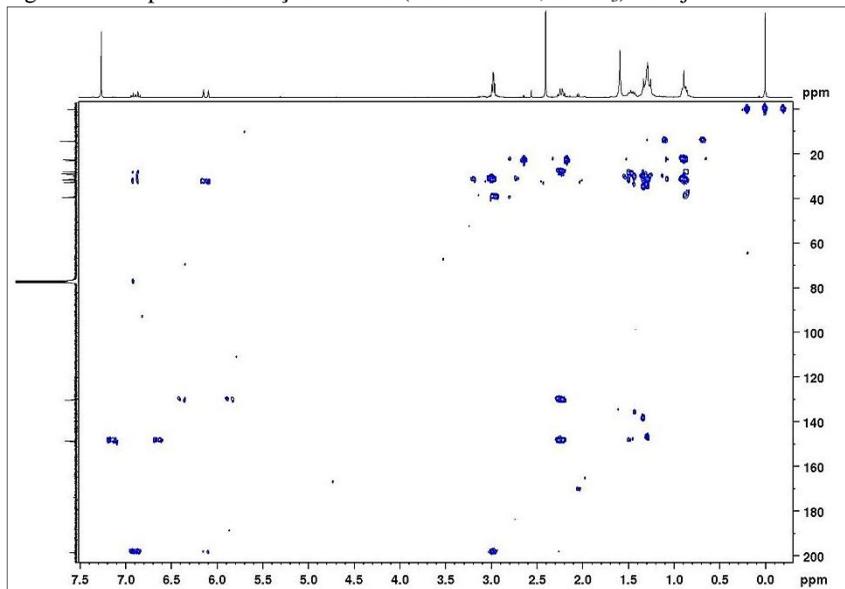
Figura 46. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj7.Figura 47. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj7.

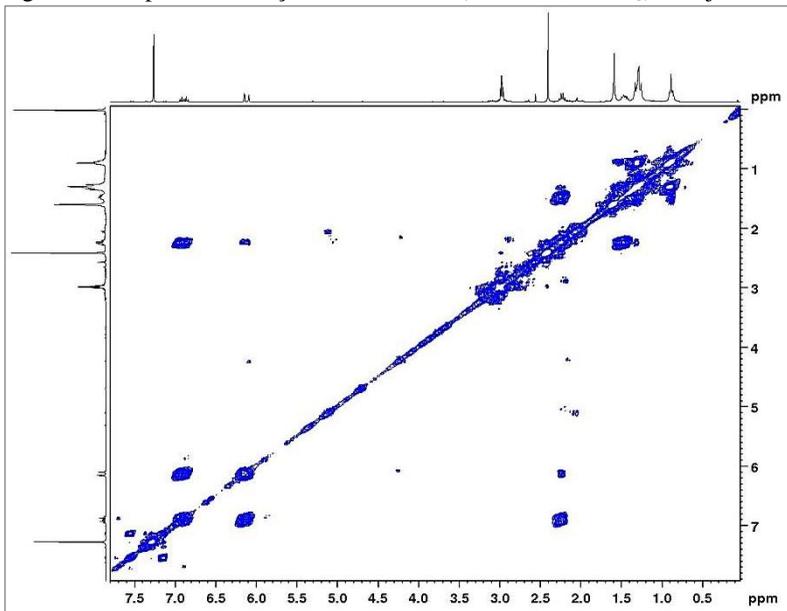
Figura 48. Mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj7.

Figura 49. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj7 obtido por ESI(+)-EMAR.

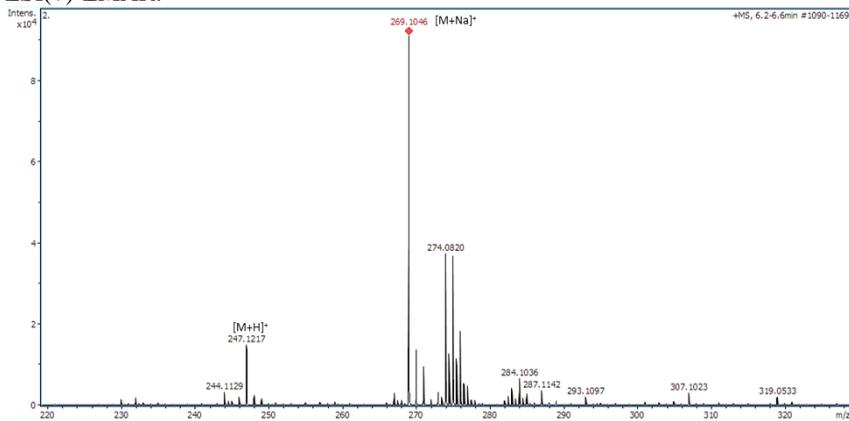
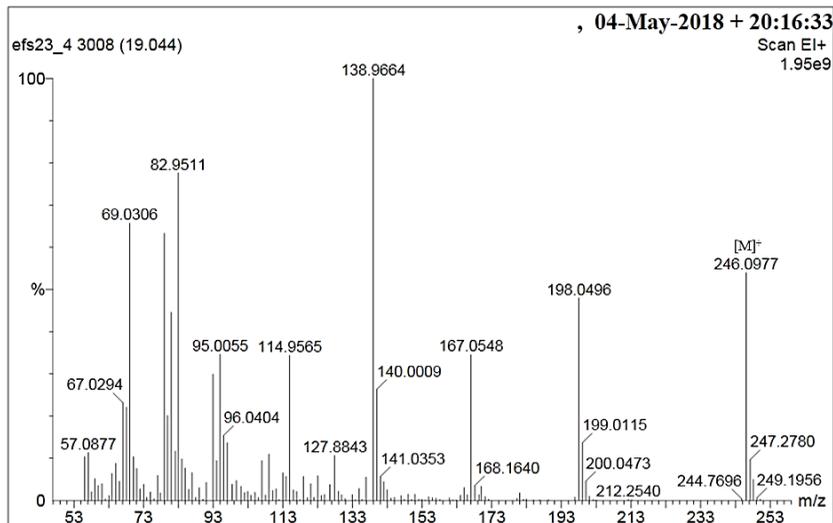


Figura 50. Espectro de massas do composto Dj7 obtido por CG-EM (EI, 70 eV).



#### 4.2.1.1.4 Substância Dj9

Dj9 foi obtido como um óleo de coloração levemente amarelada das frações J1CL16-2 e J1CL16-3, com rendimento total de 0,8 mg; na forma impura também foi obtido da fração J1ES23-3-4, conforme esquema apresentado na Figura 17.

Apresenta-se na CCD em n-Hex:AcOEt (9:1, v/v) como uma mancha com Rf 0,5, com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor marrom.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 53 e Tabela 6), os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,86 (1H, dt,  $J = 16,0, 6,9$  Hz, H-5,5'),  $\delta_{\text{H}}$  6,08 (1H, dt,  $J = 16,0, 1,6$  Hz, H-4,4') e em  $\delta_{\text{H}}$  2,20 (2H, pq,  $J = 6,9$  Hz, H-6,6'), juntamente com o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  197,9 (C-3,3') no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 54), indicam tratar-se de estrutura semelhante aos compostos do tipo  $\text{C}_{11}$  já reportados anteriormente, ou seja, contendo uma carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada.

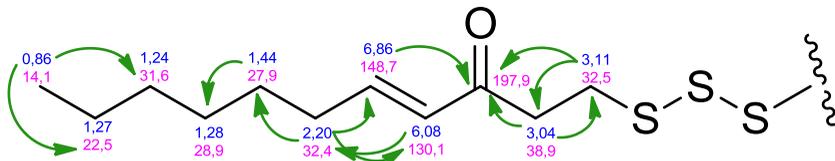
No entanto, no lugar do multipletto ressonando na região em torno de  $\delta_{\text{H}}$  2,90 no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , foram observados dois tripletos em  $\delta_{\text{H}}$  3,11 (2H, t,  $J = 6,4$  Hz, H-1,1') e  $\delta_{\text{H}}$  3,04 (2H, t,  $J = 6,4$  Hz, H-2,2'). Este incremento no deslocamento químico sugere um maior efeito de desblindagem sobre estes metilenos.

Em trabalho realizado por Moore (1971) com compostos do tipo C<sub>11</sub>, foi demonstrado o efeito do aumento do número de átomos de enxofre sobre o deslocamento químico dos hidrogênios metilênicos vicinais, observando-se um incremento dos valores, o que pode ser explicado pelo efeito anisotrópico dos átomos enxofre. Além disso, observou-se que não há alteração na ressonância dos demais metilenos da molécula ao longo da cadeia C<sub>11</sub>.

A confirmação da existência de mais átomos de enxofre foi realizada por meio da espectrometria de massas de alta resolução (ESI(+))EMAR (Figura 58), em que foi possível observar um íon de  $m/z$  431,2122, referente ao pico do íon molecular [M+H]<sup>+</sup>. Esta massa é compatível com a fórmula molecular C<sub>22</sub>H<sub>39</sub>O<sub>2</sub>S<sub>3</sub> (calculado  $m/z$  431,2112), e apresenta índice de insaturação igual 4, correspondente a dois grupos C=C e duas carbonilas. Além disso, foram observados os íons de  $m/z$  453,1942, referente ao aduto de sódio [M+Na]<sup>+</sup> e outro íon de  $m/z$  883,3986, referente ao respectivo agregado iônico (*ion cluster*) [2M+Na]<sup>+</sup>.

Devido à pequena quantidade da amostra pura de Dj9 contida nas frações puras de Dj9 (J1CL16-2 e J1CL16-3), não foi possível obter os espectros de RMN de <sup>13</sup>C, bem como os espectros bidimensionais. No entanto, estes experimentos foram realizados com a fração contendo a mistura de Dj9 e Dj1, permitindo atribuir os sinais ao longo da cadeia C<sub>11</sub>. Destacam-se as correlações no mapa de HSQC (Figura 56) dos hidrogênios em δ<sub>H</sub> 3,11 (H-1,1') e δ<sub>H</sub> 3,04 (H-2,2') com os carbonos ressonando em δ<sub>C</sub> 32,5 (C-1,1') e δ<sub>C</sub> 38,9 (C-1,1'), respectivamente. No mapa de HMBC (Figura 57) é possível verificar as correlações entre ambos os metilenos, bem como com o carbono quaternário da carbonila em δ<sub>C</sub> 197,9, conforme apresentado na Figura 51.

Figura 51. Estrutura parcial da substância Dj9 com as correlações observadas no mapa de HMBC.



Destá forma, a substância Dj9 foi identificada como bis(*E*)-(3-oxo-undec-4-enil)trissulfeto (Figura 52), considerada inédita na literatura. Anteriormente Moore (1971) havia isolado da mistura das algas *D*.

*plagiogramma* e *D. australis* um trissulfeto semelhante, porém com ausência das duplas ligações entre C-4 e C-5.

Figura 52. Estrutura na substância Dj9 (bis(*E*)-(3-oxo-undec-4-enil)trissulfeto).

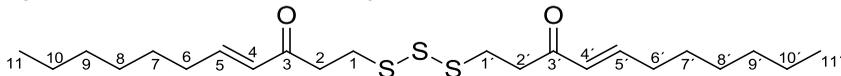


Tabela 6. Dados espectrais de RMN da substância Dj9 obtidos no presente trabalho.

<b>Dj9</b> <b>(300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</b>			
<b>Posição</b>	<b><math>\delta_H</math> (mult., J Hz)</b>	<b><math>\delta_C</math></b>	<b>HMBC</b>
1, 1'	3,11 (2H, t, 6,4)	32,5	197,9
2, 2'	3,04 (2H, t, 6,4)	38,9	32,4
3, 3'	-	197,9	38,9; 197,9
4, 4'	6,08 (1H, dt, 16,0; 1,6)	130,1	32,4; 197,9
5, 5'	6,86 (1H, dt 16,0; 6,9)	148,7	148,7; 130,1; 27,9
6, 6'	2,20 (2H, pq, 6,9)	32,4	28,9
7, 7'	1,44 (2H, m)	27,9	-
8, 8'	1,28 (2H, m)	28,9	-
9, 9'	1,24 (2H, m)	31,6	-
10, 10'	1,27 (2H, m)	22,5	-
11, 11'	0,86 (3H, t, 6,6)	14,1	22,5; 31,6

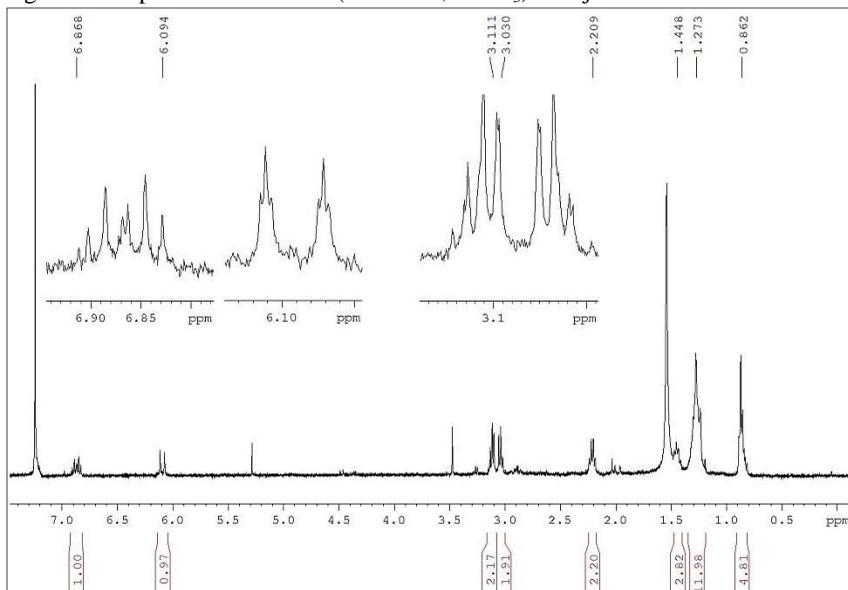
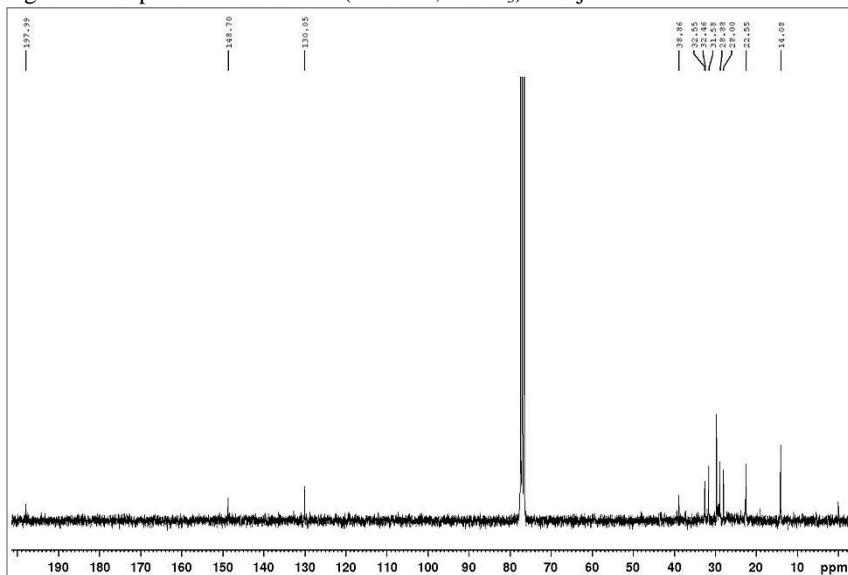
Figura 53. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj9.Figura 54. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj9.

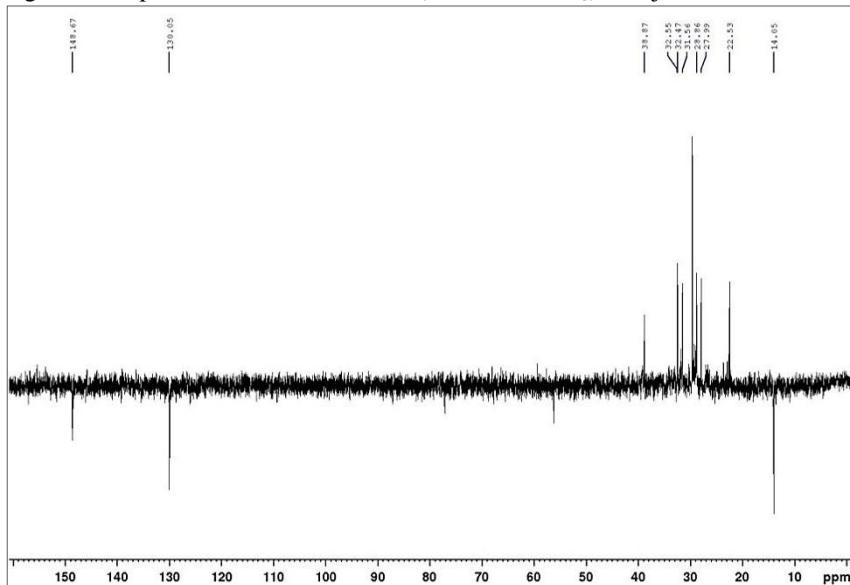
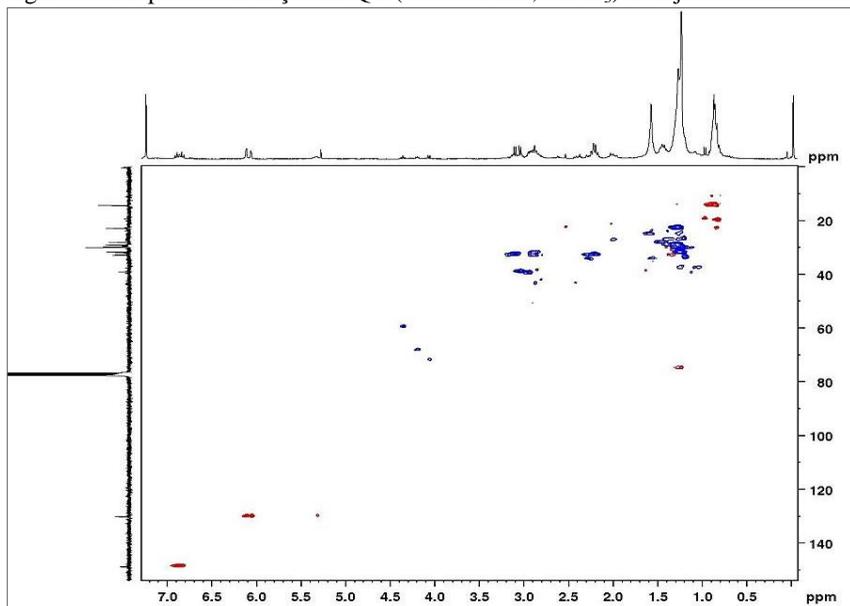
Figura 55. Espectro de RMN DEPT 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj9.Figura 56. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj9.

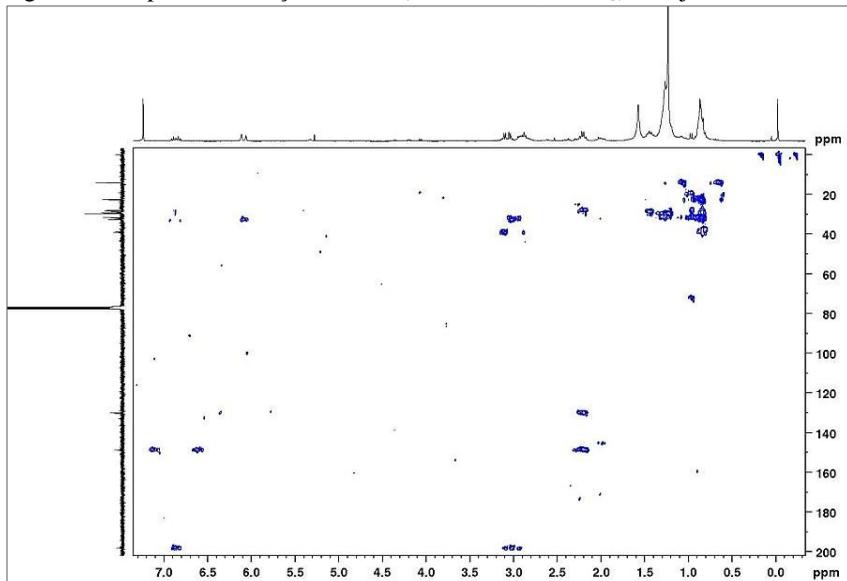
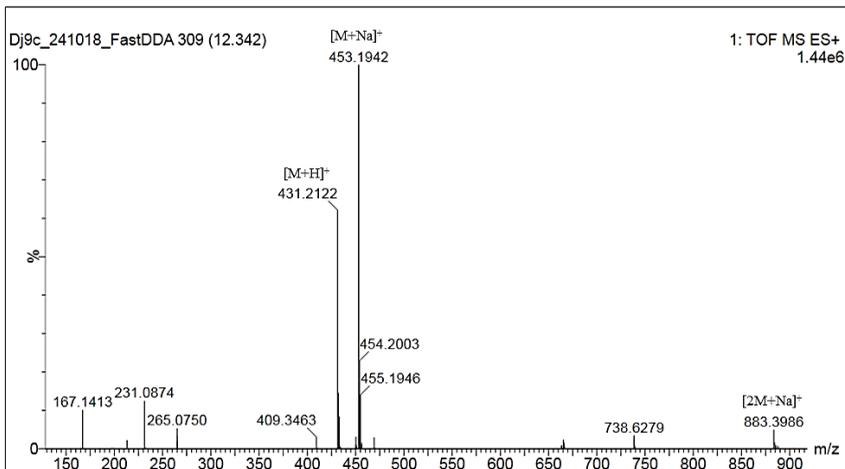
Figura 57. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Dj9.

Figura 58. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj9 obtido por ESI(+)-EMAR.



#### 4.2.1.1.5 Substância Dj11

Dj11 foi obtido como um óleo de coloração levemente amarelada da fração JIES14-3, com rendimento total de 5,7 mg, conforme esquema apresentado na Figura 17.

Apresenta-se na CCD em Hex/AcOEt (9:1, v/v) como uma mancha com Rf 0,4, com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor marrom.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 65 e Tabela 8) apresentou sinais semelhantes aos compostos do tipo  $\text{C}_{11}$  reportados anteriormente, sugerindo a possibilidade de tratar-se de outro dissulfeto. No entanto, o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 66) apresentou 25 sinais de carbono, indicando a ausência de simetria na molécula. A comparação dos dados entre Dj1 e Dj11 (Tabela 7) possibilitou concluir que uma das partes de Dj11 era idêntica à do monômero da substância Dj1, conforme Figura 59.

Figura 59. Primeira estrutura parcial da substância Dj11 referente ao primeiro monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .

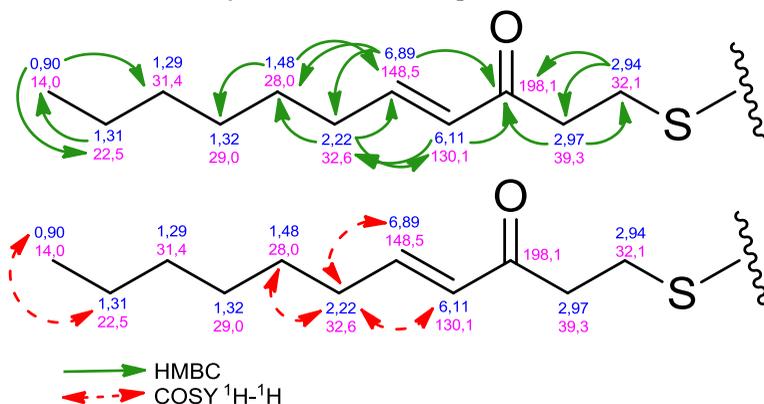
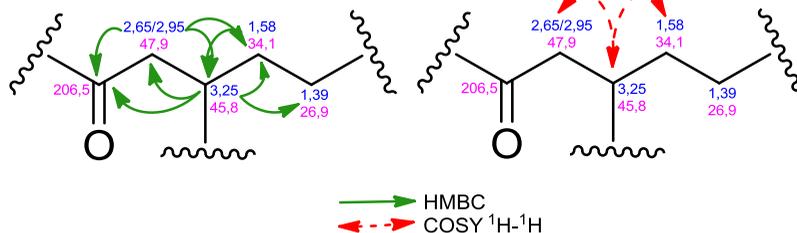


Tabela 7. Comparação dos dados espectrais de RMN da estrutura parcial referentes a um dos monômeros da substância Dj11 com o composto Dj1.

Posição	Dj11 (primeiro monômero) (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )		Dj1 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	2,94 (2H, m)	32,1	2,93 (2H, m)	32,0
2	2,97 (2H, m)	39,3	2,95 (2H, m)	39,2
3	-	198,1	-	198,2
4	6,11 (1H, dt, 16,0; 1,4)	130,1	6,08 (1H, dt, 16,0; 1,6)	130,0
5	6,89 (1H, dt 16,0; 6,9)	148,5	6,86 (1H, dt, 16,0; 6,9)	148,5
6	2,22 (2H, pq, 6,9)	32,6	2,20 (2H, pq, 7,2)	32,5
7	1,48 (2H, m)	28,0	1,44 (2H, m)	27,9
8	1,32 (2H, m)	29,0	1,29 (2H, m)	28,8
9	1,29 (2H, m)	31,4	1,28 (2H, m)	31,5
10	1,31 (2H, m)	22,5	1,29 (2H, m)	22,5
11	0,90 (3H, t, 6,7)	14,0	0,86 (3H, t, 6,6)	14,0

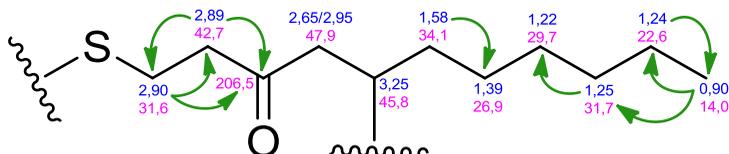
A determinação da estrutura da segunda parte do dissulfeto foi realizada levando-se em conta a presença dos sinais ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  2,65 (1H, dd,  $J = 17,3, 6,5$  Hz, H-4'),  $\delta_{\text{H}}$  2,95 (1H, dd,  $J = 17,3, 6,5$  Hz, H-4') e  $\delta_{\text{H}}$  3,25 (1H, m, H-5'). No mapa de correlação de HSQC (Figura 67) verificou-se que os dois primeiros hidrogênios apresentam correlação direta com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  47,9 (C-4'), tratando-se, portanto, de um metino com hidrogênios não equivalentes. Já o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,25 apresentou correlação direta com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  45,8 (C-5'), sugerindo tratar-se de um metino desblindado. Estes grupos apresentam correlação entre si no mapa de HMBC (Figura 68), bem como com o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  206,5 (C-3'), correspondente a uma carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada, e com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  34,1 (C-6') e  $\delta_{\text{C}}$  26,9 (C-7'). Padrão semelhante foi verificado anteriormente para o composto Dj5 (Tabela 4). Nota-se, ainda, que os sinais de Dj11 apresentam-se mais desblindados em comparação a Dj5, verificando-se também nesta última a presença de hidrogênios geminais não equivalentes em  $\delta_{\text{H}}$  2,65 e  $\delta_{\text{H}}$  2,95, indicando a existência de um centro mais eletronegativo próximo, conforme estrutura parcial apresentada na Figura 60.

Figura 60. Segunda estrutura parcial da substância Dj11 referente ao segundo monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



A determinação do restante da cadeia lateral deste segundo monômero foi realizada com base nas correlações observadas nos mapas de HSQC e HMBC, conforme apresentado na Figura 61.

Figura 61. Estrutura parcial da substância Dj11 referente ao segundo monômero com as demais correlações verificadas no mapa de HMBC.

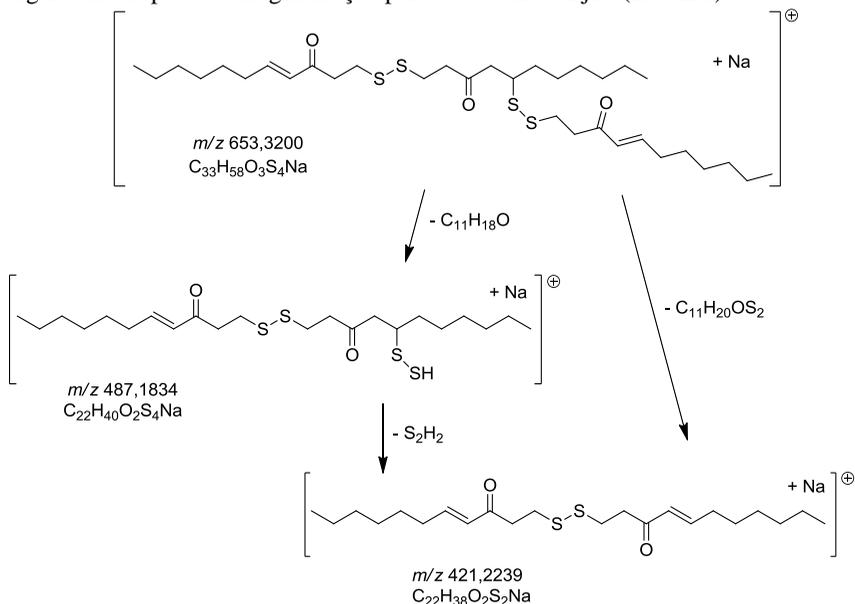


No entanto, o substituinte da posição 5' (posição  $\beta$  em relação à carbonila) ainda não havia sido determinado. A comparação com os dados da literatura remeteu inicialmente ao segundo monômero do composto 5-hidroxitio-1-(3-oxo-undecil)-dissulfanilundecan-3-ona, reportado por Dimou et al. (2016), o qual apresentava uma hidroxila como substituinte nesta posição. Apesar dos deslocamentos químicos serem praticamente idênticos aos encontrados para Dj11, os valores de integração para os hidrogênios do metino em 5' ( $\delta_{\text{H}}$  3,25) e do metileno em 4' ( $\delta_{\text{H}}$  2,65) eram de apenas 0,5, considerando o valor de 1,0 para os hidrogênios olefínicos. Além disso, no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  havia carbonos excedentes com deslocamentos químicos em  $\delta_{\text{C}}$  33,1,  $\delta_{\text{C}}$  39,2 e  $\delta_{\text{C}}$  130,0, ainda não assignados na estrutura.

Por meio do espectro de massas de alta resolução (ESI(+))EMAR (Figura 70), foi possível observar um íon de  $m/z$  653,3200, referente ao pico do íon molecular  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Esta massa é compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{O}_3\text{S}_4\text{Na}$  (calculado  $m/z$  653,3166), e apresenta índice de

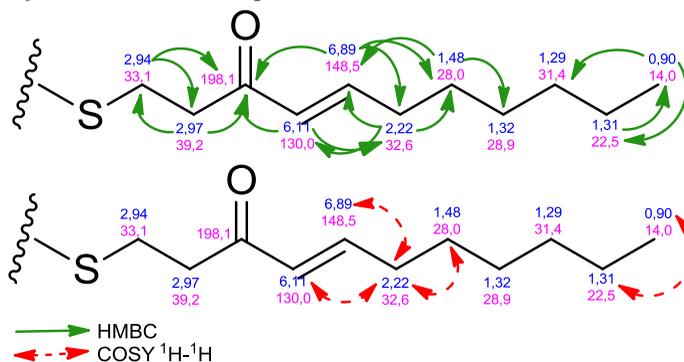
insaturação igual 5. Além disso, foram observados os íons de  $m/z$  487,1834 e  $m/z$  421,2239. O primeiro é compatível com a fórmula molecular  $C_{22}H_{40}O_2S_4Na$  (calculado  $m/z$  487,1809) e o segundo com a fórmula molecular  $C_{22}H_{38}O_2S_2Na$  (calculado  $m/z$  421,2211). Com base nestes dados, pode-se sugerir que o substituinte ligado na posição 5' do segundo monômero corresponde a outro monômero idêntico ao primeiro, conforme proposta de fragmentação apresentada na Figura 62.

Figura 62. Proposta de fragmentação para a substância Dj11 (ESI-EM).



Apesar da estrutura não ser simétrica, por tratar-se de dois monômeros idênticos, espera-se que os deslocamentos químicos sejam bastante parecidos. As principais diferenças correspondem aos carbonos vicinais à ponte dissulfeto ( $\delta_C$  33,1 e  $\delta_C$  39,2) e ao carbono olefinico em  $\delta_C$  130,0, conforme estrutura parcial apresentada na Figura 63.

Figura 63. Estrutura parcial da substância Dj11 referente ao terceiro monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC e  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY.



Dessa forma, o conjunto dos dados permitiu a identificação da substância como (4*E*)-1-[(3-oxo-1-[[*(E)*]-3-oxoundec-4-en-1-il]disulfanil]undecan-5-il]disulfanil]undec-4-en-3-ona (Figura 64), considerada inédita na literatura.

Figura 64. Estrutura da substância Dj11 ((*E*)-1-[(3-oxo-1-[[*(E)*]-3-oxoundec-4-en-1-il]disulfanil]undecan-5-il]disulfanil]undec-4-en-3-ona).

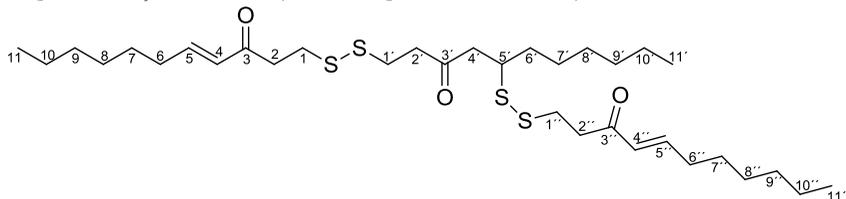


Tabela 8. Dados espectrais de RMN da substância Dj11 obtidos no presente trabalho.

<b>Dj11</b>				
<b>(300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</b>				
<b>Posição</b>	<b><math>\delta_H</math> (mult., J Hz)</b>	<b><math>\delta_C</math></b>	<b>HMBC</b>	<b>COSY <math>^1H</math>-<math>^1H</math></b>
1	2,94 (2H, m)	32,1	39,3; 198,1	-
2	2,97 (2H, m)	39,3	32,1; 198,1	-
3	-	198,1	-	-
4	6,11 (1H, dt, 16,0; 1,4)	130,1	32,6; 198,1	2,22
5	6,89 (1H, dt 16,0; 6,9)	148,5	28,0; 32,6; 198,1	2,22
6	2,22 (2H, pq, 6,9)	32,6	28,0; 130,1; 148,5	1,48; 6,11
7	1,48 (2H, m)	28,0	29,0; 148,5	2,22
8	1,32 (2H, m)	29,0	-	-
9	1,29 (2H, m)	31,4	-	-
10	1,31 (2H, m)	22,5	14,0	0,90
11	0,90 (3H, t, 6,7)	14,0	22,5; 31,4	1,31
1'	2,90 (2H, m)	31,6	42,7; 206,5	-
2'	2,89 (2H, m)	42,7	31,6; 206,5	-
3'	-	206,5	-	-
4'	2,95 (1H, dd, 17,3; 6,5)	47,9	34,1; 45,8; 206,5	2,65; 3,25
	2,65 (1H, dd, 17,3; 6,5)			2,95; 3,25
5'	3,25 (1H, m)	45,8	26,9; 34,1; 47,9;	1,58; 2,65;
			206,5	2,95
6'	1,58 (2H, m)	34,1	26,9; 45,8	3,25
7'	1,39 (2H, m)	26,9	-	-
8'	1,22 (2H, m)	29,7	-	-
9'	1,25 (2H, m)	31,7	29,7	-
10'	1,24 (2H, m)	22,6	14,0	-
11'	0,90 (3H, t, 6,7)	14,0	22,6; 31,7	-
1''	2,94 (2H, m)	33,1	39,2; 198,1	-
2''	2,97 (2H, m)	39,2	33,1; 198,1	-
3''	-	198,1	-	-
4''	6,11 (1H, dt, 16,0; 1,4)	130,0	32,6; 198,1	2,22
5''	6,89 (1H, dt 16,0; 6,9)	148,5	28,0; 32,6; 198,1	2,22
6''	2,22 (2H, pq, 6,9)	32,6	28,0; 130,0; 148,5	1,48; 6,11
7''	1,48 (2H, m)	28,0	29,0; 148,5	2,22
8''	1,32 (2H, m)	29,0	-	-
9''	1,29 (2H, m)	31,4	-	-
10''	1,31 (2H, m)	22,5	14,0	0,90
11''	0,90 (3H, t, 6,7)	14,0	22,5; 31,4	1,31

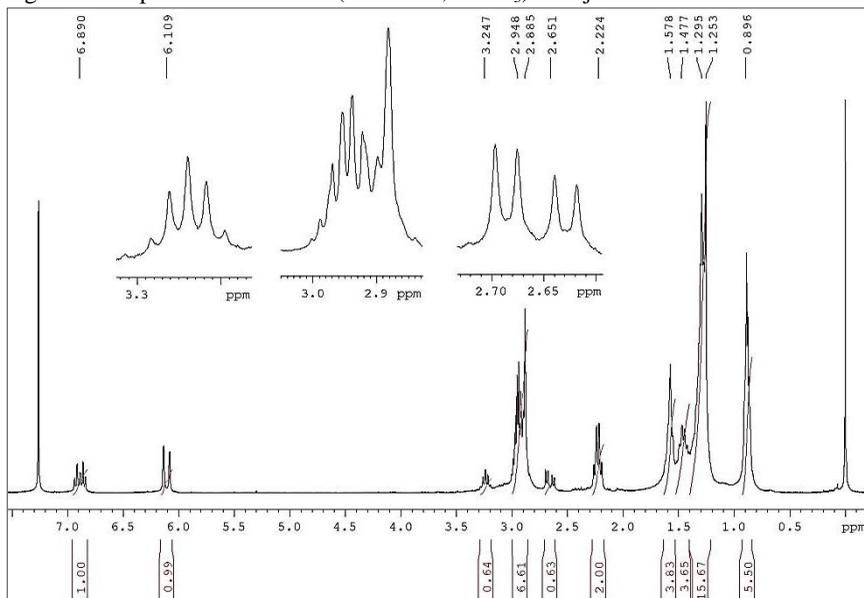
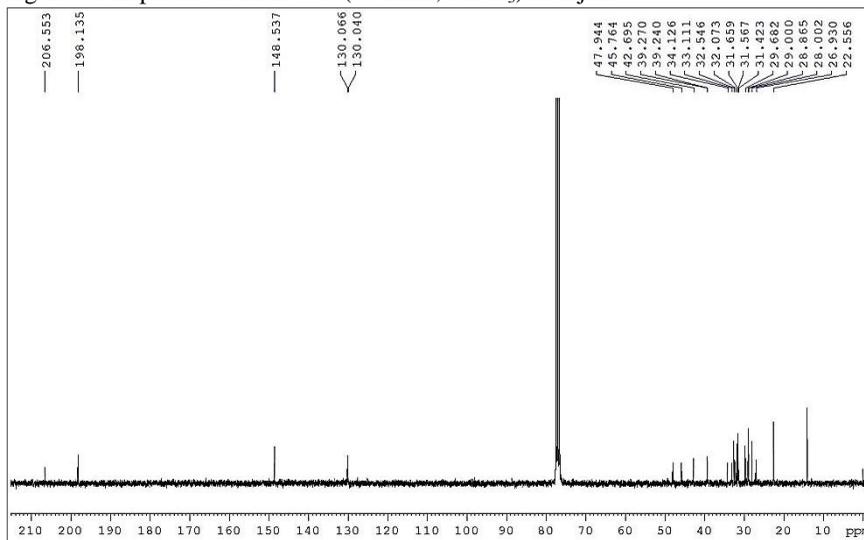
Figura 65. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj11.Figura 66. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj11.

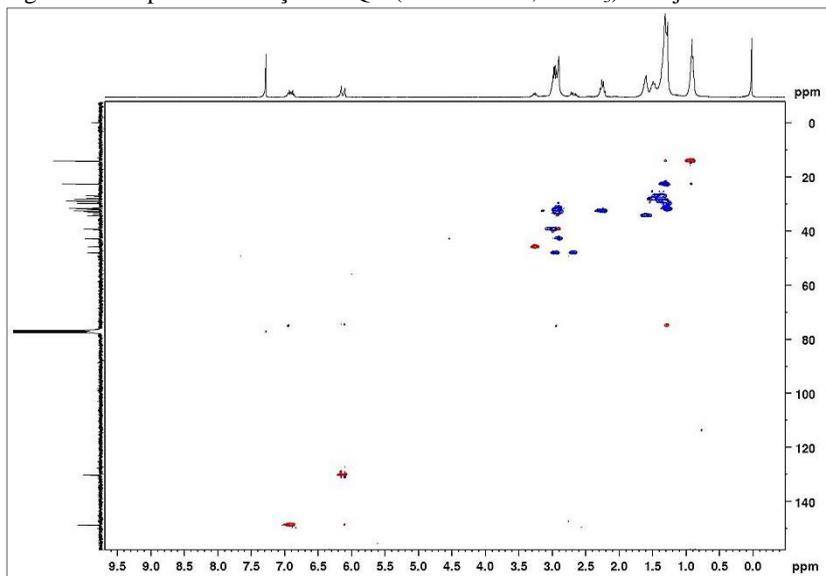
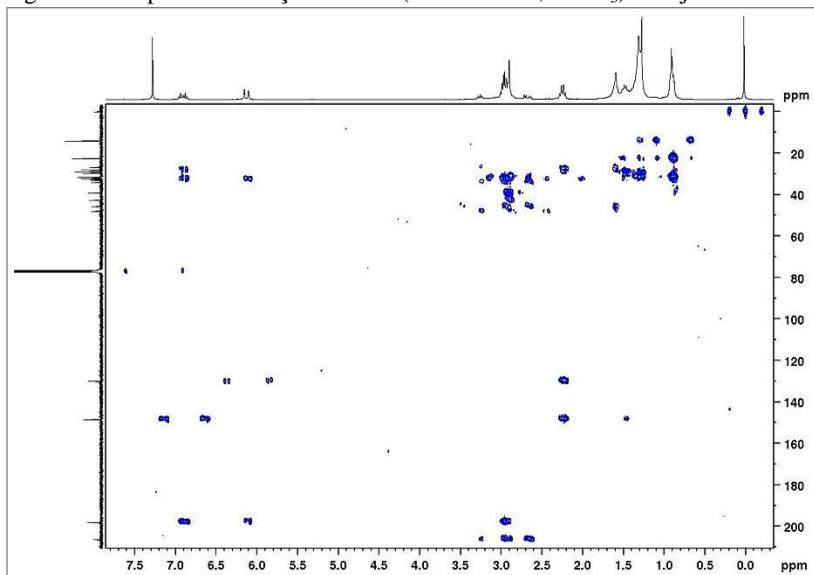
Figura 67. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj11.Figura 68. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj11.

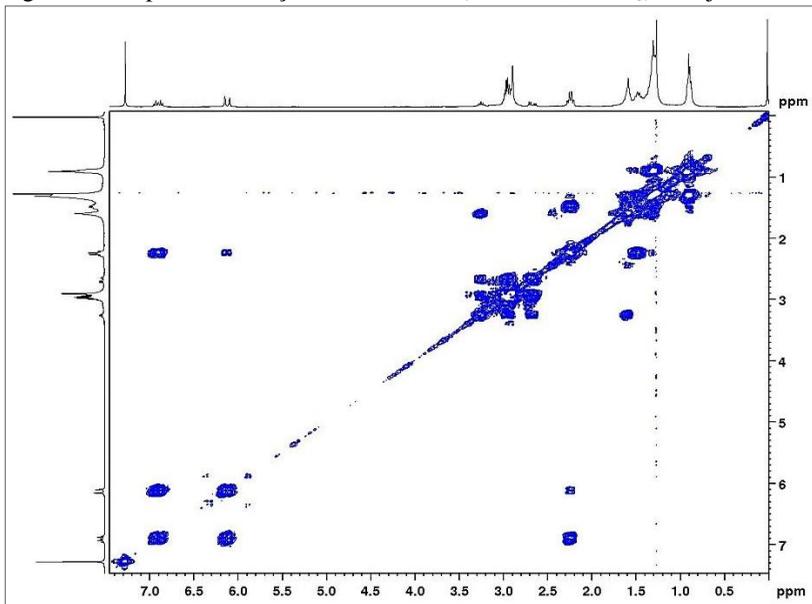
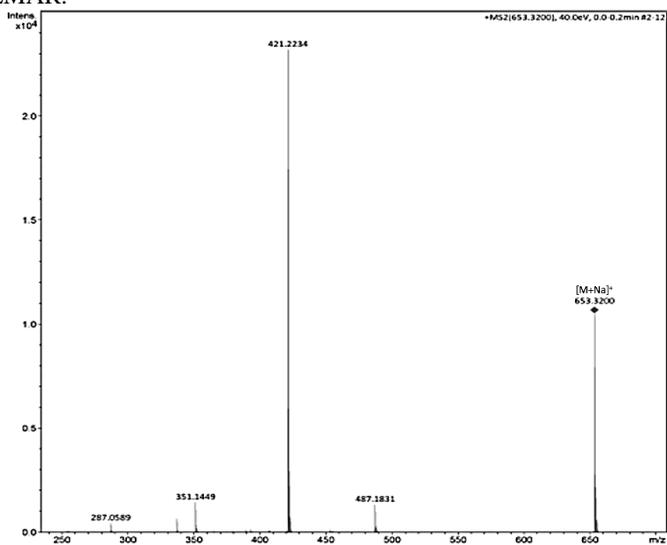
Figura 69. Mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj11.

Figura 70. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj11 obtido por ESI(+)-EMAR.



#### 4.2.1.1.6 Substância Dj13

Dj13 foi obtida como um óleo de coloração levemente amarelada das frações J1CL12-3, J1CL8-51-52 e J1C17-50-62, com rendimento total de 46,1 mg, e na forma impura na fração J1C17-63-68, conforme esquema apresentado nas Figuras 17, 18 e 19.

Apresenta-se na CCD em n-Hex:EtOAc (94:6, v/v) como uma mancha com Rf 0,35, que não extingue a fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor marrom.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 72 e Tabela 9) apresentou poucos sinais de hidrogênio, sendo caracterizado pela presença de um multipeto na região entre  $\delta_{\text{H}}$  2,7-2,9 (7H), sugerindo que estes hidrogênios estariam próximos a átomo eletronegativo. Um multipeto na região entre  $\delta_{\text{H}}$  1,2-1,4 integrando para 8H sugeriu também a presença de uma cadeia metilênica na estrutura, com uma metila terminal correspondente ao tripeto em  $\delta_{\text{H}}$  0,88 (3H, t,  $J = 6,8$  Hz, H-13). O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 73) apresentou 10 sinais, sendo um deles com ressonância em  $\delta_{\text{H}}$  208,4 (C-5), indicativo de grupamento cetona sem insaturação em posição  $\alpha,\beta$ .

O espectro de massas de alta resolução (ESI(+))EMAR (Figura 77) também foi obtido para a substância Dj13 e apresentou um íon de  $m/z$  233,1047, referente ao pico do íon molecular  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{OS}_2$  (calculado  $m/z$  233,1034), indicando um carbono a mais na estrutura (não observado no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ ). O índice de insaturação calculado foi igual 2, sendo um correspondente à carbonila e outro sugestivo de um ciclo, já que não foram observados sinais nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  indicativos de dupla ligação.

Os dados espectroscópicos foram comparados com aqueles da literatura, apresentando grande similaridade com o dissulfeto heptacíclico 3-hexil-4,5-ditiacicloheptanona (Figura 71) (ROLLER; AU; MOORE, 1971; SCHNITZLER; BOLAND; HAY, 1998; DIMOU et al., 2016). Dessa forma, os deslocamentos químicos foram atribuídos de acordo com os verificados na literatura para este composto. No entanto, algumas divergências foram observadas. Primeiramente, os trabalhos anteriores não atribuíram deslocamento químico para o carbono na posição 3. Neste trabalho, com base no mapa de correlação de HSQC (Figura 74), foi possível atribuir o deslocamento de  $\delta_{\text{C}}$  33,1 ( $\text{CH}_2$ ) para o carbono desta posição. Também com base no mapa de correlação de HSQC, foram atribuídos os deslocamentos de  $\delta_{\text{C}}$  31,7 (CH) para o carbono em C-7 (sobreposto ao carbono referente a C-9), o qual está ligado ao hidrogênio

com deslocamento de  $\delta_H$  1,35 (1H, m, H-7), e de  $\delta_C$  35,2 ao carbono em C-8 (CH<sub>2</sub>), o qual está ligado ao hidrogênio com deslocamento de  $\delta_H$  1,55 (2H, m, H-8).

Esta substância já havia sido isolada da espécie *D. plagiogramma* (ROLLER; AU; MOORE, 1971), bem como de *D. polypodioides* (SCHNITZLER; BOLAND; HAY, 1998; SCHNITZLER et al., 2001; HATTAB et al., 2007b; MAYER et al., 1993; DIMOU et al., 2016). Também foi reportada para a espécie de alga parda *Hormophysa cuneiformes* (HATTAB et al., 2007a).

Como já mencionado na introdução, este composto isolado de *D. polypodioides* apresentou atividade anti-inflamatória, sendo capaz de reduzir a produção de NO em macrófagos estimulados com LPS, com CI<sub>50</sub> de 14,2  $\mu$ M. Além disso, apresentou atividade citostática em células da linhagem RAW 264.7 apenas em concentrações acima de 85  $\mu$ M (DIMOU et al., 2016). Segundo esse mesmo trabalho, o composto não apresentou atividade antibacteriana contra cepas de *S. aureus* multirresistente a medicamentos (SA1199B) e resistente à meticilina (EMRSA-15). Além disso, não inibiu significativamente a fosfolipase A<sub>2</sub> (apenas 29 % de inibição enzimática) (MAYER et al., 1993)

Com relação aos efeitos ecológicos, este composto apresentou atividade bastante interessante, demonstrando capacidade de diminuir a herbivoria pela anfípoda *Ampithoe longimana*, porém não pelo ouriço *A. punctulata* (SCHNITZLER et al., 1998 e 2001). De maneira geral, em investigações anteriores, uma variedade de algas demonstrou capacidade de defesa contra a herbivoria por peixes e ouriços, mas com pouco efeito sobre pequenos herbívoros invertebrados, como as anfípodas (HAY, 1997; HAY; RENAUD; FENICAL, 1988; STENECK; BELLWOOD; HAY, 2017).

Figura 71. Estrutura da substância Dj13 (3-hexil-4,5-ditiacicloheptanona).

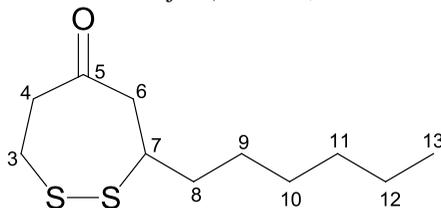


Tabela 9. Dados espectrais de RMN da substância Dj13 obtidos no presente trabalho e em comparação com dados da literatura para a substância 3-hexil-4,5-ditiacicloheptanona.

Posição	Dj13 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )		Composto 4 Schnitzler, Boland e Hay, 1998 (400/100 MHz, CDCl <sub>3</sub> )		Composto 8 Roller, Au e Moore, 1971 (C <sub>6</sub> D <sub>6</sub> ) <sup>a</sup>
	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (mult., J Hz)
3 <sup>b</sup>	2,7-2,9 (2H, m)	33,1	2,7-2,9 (2H, m)	-	2,37 (4H)
4	2,7-2,9 (2H, m)	45,3	2,7-2,9 (2H, m)	45,30	
5	-	208,4	-	208,30	-
6	2,7-2,9 (2H, m)	50,3	2,7-2,9 (2H, m)	50,32	2,45 (2H)
7	1,35 (1H, m)	31,7	2,7-2,9 (1H, m)	35,19	2,70 (1H, m)
8	1,55 (2H, m)	35,2	1,5 (2H, m)	33,63	
9	1,2-1,4 (2H, m)	31,6	1,2-1,4 (2H, m)	31,64	
10	1,2-1,4 (2H, m)	28,9	1,2-1,4 (2H, m)	28,89	1,0-1,4 (10H, m)
11	1,2-1,4 (2H, m)	27,1	1,2-1,4 (2H, m)	27,11	
12	1,2-1,4 (2H, m)	22,5	1,2-1,4 (2H, m)	21,93	
13	0,88 (3H, t, 6,8)	14,0	0,85 (3H, t)	14,08	0,86 (3H, t)

<sup>a</sup> A frequência em MHz não foi especificada pelos autores.

<sup>b</sup> Este sinal não foi descrito no trabalho de Schnitzler, Boland e Hay (1998).

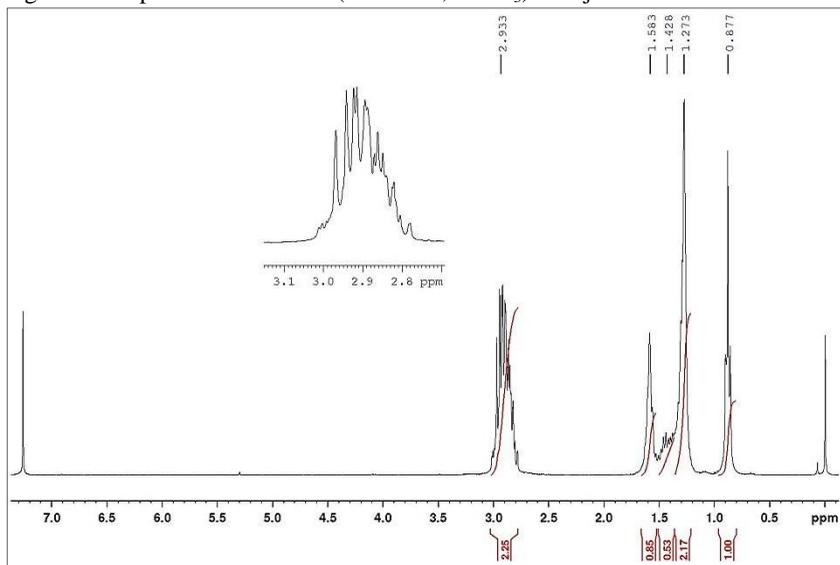
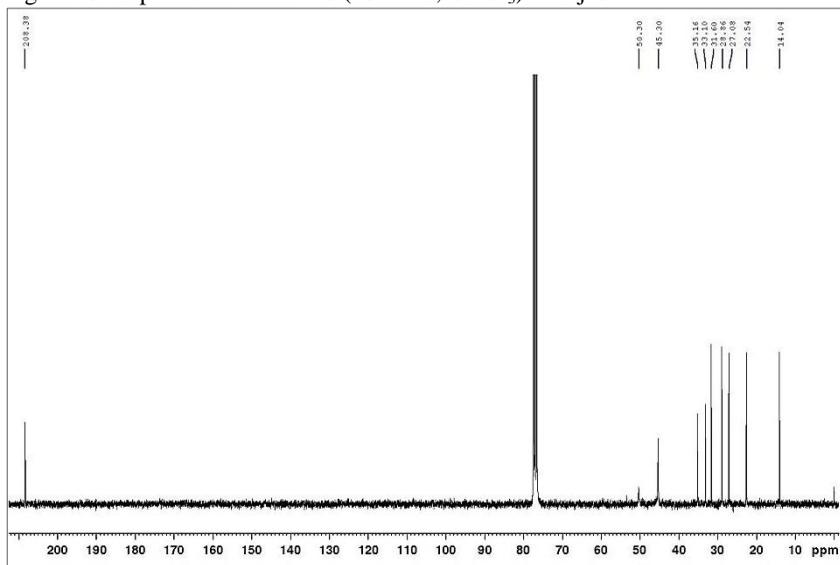
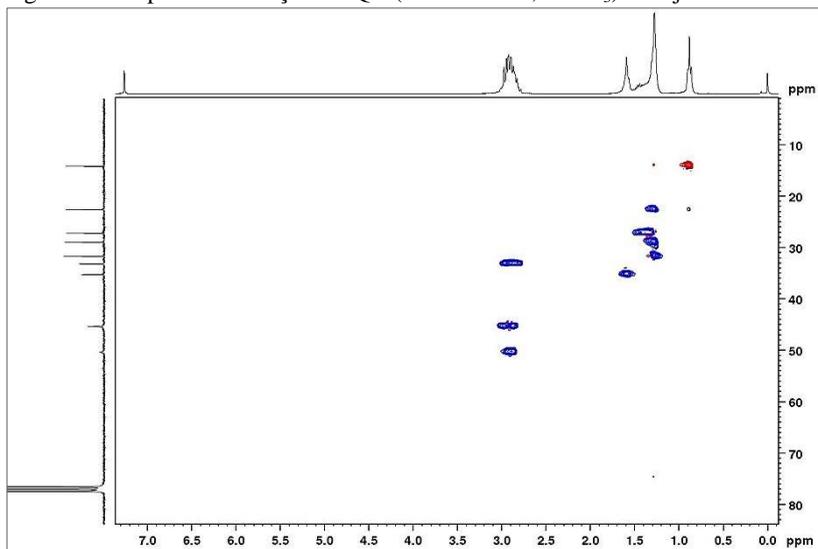
Figura 72. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj13.Figura 73. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj13

Figura 74. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj13.

\* Sinais em azul correspondem a  $\text{CH}_2$ , sinais em vermelho correspondem a  $\text{CH}$  ou  $\text{CH}_3$ .

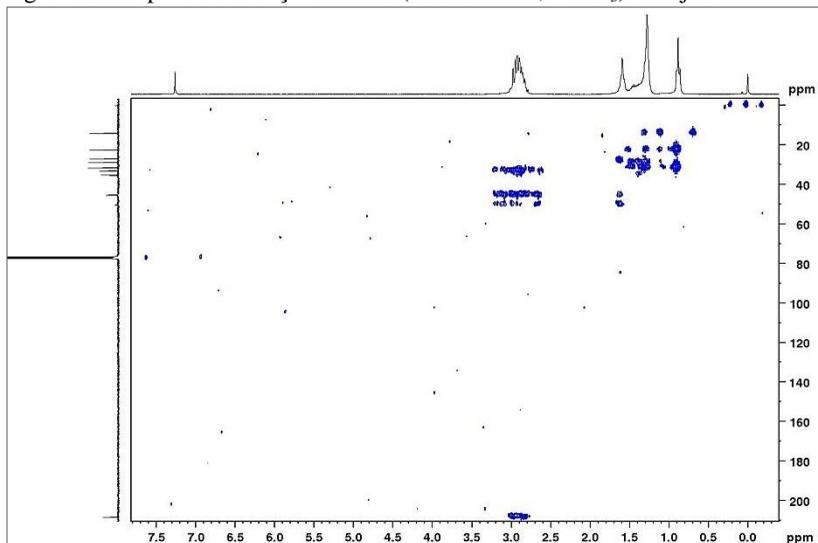
Figura 75. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj13.

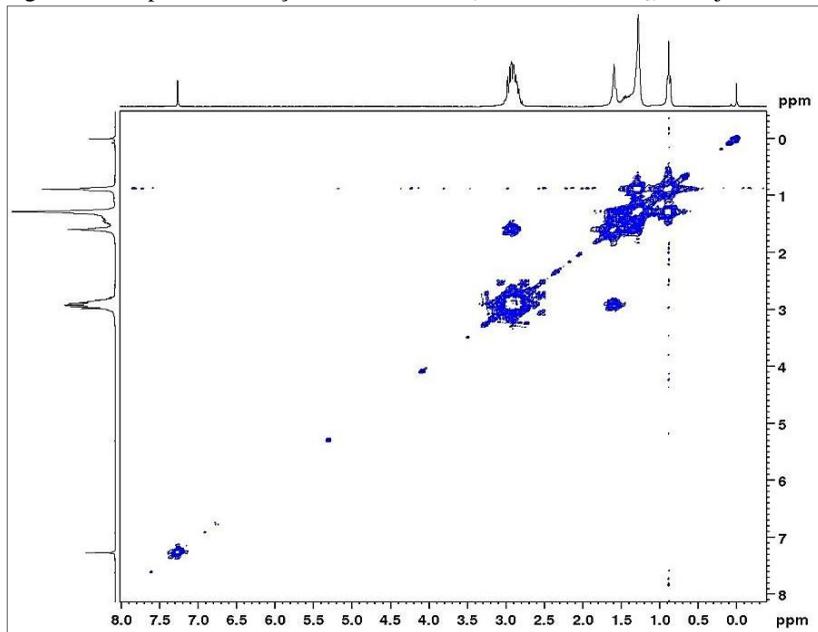
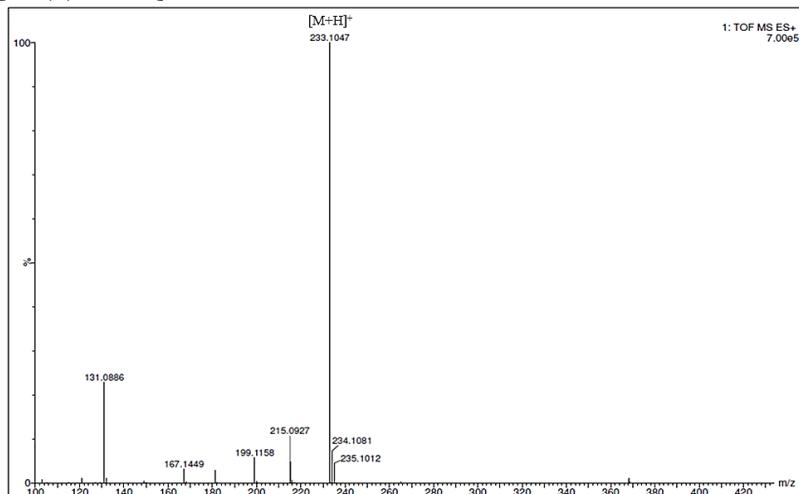
Figura 76. Mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj13.

Figura 77. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj13 obtido por [ESI(+)-EMAR].



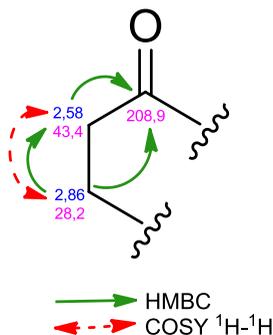
#### 4.2.1.1.7 Substância Dj16

Dj16 foi obtida como um óleo de coloração levemente amarelada da fração J1CL13-2, com rendimento total de 1,2 mg, conforme esquema apresentado na Figura 17. Em CLAE apresentou-se com tempo de retenção de 20,8 min em um sistema de fase móvel composto por Hex:AcOEt (95:5) e fluxo de 1,5 mL/min.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 83 e Tabela 10) apresentou 11 sinais de carbonos, indicando tratar-se de outro composto do tipo  $\text{C}_{11}$ , com um padrão de sinais bastante semelhante ao verificado para a substância Dj13 descrita anteriormente. A presença de um carbono ressonando em  $\delta_{\text{C}}$  208,9, indicativo de grupamento cetona sem insaturação na posição  $\alpha,\beta$ , além de oito metilenos ( $\delta_{\text{C}}$  50,7,  $\delta_{\text{C}}$  43,4,  $\delta_{\text{C}}$  35,6,  $\delta_{\text{C}}$  31,6,  $\delta_{\text{C}}$  28,9,  $\delta_{\text{C}}$  28,2,  $\delta_{\text{C}}$  26,8 e  $\delta_{\text{C}}$  22,5), um metino ( $\delta_{\text{C}}$  44,8) e uma metila ( $\delta_{\text{C}}$  14,0), que puderam ser caracterizados com o auxílio do mapa de HSQC editado (Figura 84).

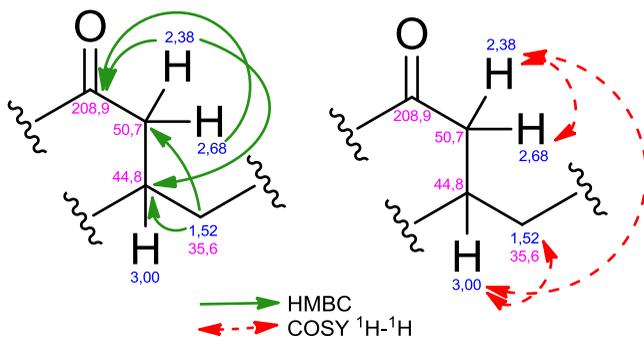
No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 82) também foi possível observar certa similaridade entre as duas substâncias, com diversos sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  2,5 a  $\delta_{\text{H}}$  3,0, bem como hidrogênios mais blindados entre  $\delta_{\text{H}}$  0,8 e 1,6, sugerindo tratar-se de uma estrutura cíclica ligada a uma cadeia alifática. Na região espectral contendo os sinais mais desblindados, é possível observar a presença de três multipletos ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  3,00 (1H, m, H-6),  $\delta_{\text{H}}$  2,86 (2H, m, H-2) e  $\delta_{\text{H}}$  2,58 (2H, m, H-3). Estes dois últimos sinais apresentaram correlação direta no mapa de HSQC com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  28,2 (C-2) e  $\delta_{\text{C}}$  43,4 (C-3), respectivamente, além de apresentarem correlações entre si e com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  208,9 (C-4) no mapa de HMBC (Figura 85) e  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (Figura 86), conforme estrutura parcial apresentada na Figura 78.

Figura 78. Primeira estrutura parcial da substância Dj16 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



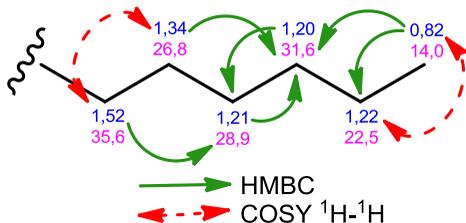
Ainda no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e no mapa de HSQC foi observada a presença de dois hidrogênios diastereotópicos na forma de duplos dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  2,68 (1H, dd, 14,1 e 3,2 Hz, H-5a) e  $\delta_{\text{H}}$  2,38 (1H, dd, 14,1 e 13,4 Hz, H-5b), formando um sistema de spins ABX; é possível observar um acoplamento geminal (14,1 Hz), bem como acoplamento vicinal para cada um dos hidrogênios. No caso do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,68, o valor de  $J = 3,2$  Hz é indicativo da posição equatorial, enquanto para o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,38, o valor de  $J = 13,4$  Hz indica posição axial. Por meio do mapa de HSQC foi possível observar que estes hidrogênios estão ligados diretamente a um carbono ressonando em  $\delta_{\text{C}}$  50,7 (C-5), e, por meio do mapa de HMBC, observou-se a correlação entre estes hidrogênios com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  208,9 (C-4). Além disso, o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,38 apresentou correlação com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  44,8 (C-6) e seu hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  3,00 (H-6) nos mapas de HMBC e  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY. Este último, por sua vez, apresentou correlações nos mapas de HMBC e  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY com sinal em  $\delta_{\text{H}}$  1,52 (H-7) e  $\delta_{\text{C}}$  35,6 (C-7), correspondentes ao metileno diretamente ligado ao anel, conforme estrutura parcial apresentada na Figura 79.

Figura 79. Segunda estrutura parcial da substância Dj16 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



A determinação da cadeia lateral alquílica se deu em conformidade com as correlações observadas nos espectros bidimensionais, conforme Figura 80.

Figura 80. Terceira estrutura parcial da substância Dj16 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



Dessa forma, a análise conjunta dos espectros permitiu identificar a existência de dois sistemas de spins da molécula, sendo um deles representado na primeira estrutura parcial (Figura 78) e o outro na segunda e terceira estruturas parciais (Figuras 79 e 80). O isolamento destes dois sistemas se dá, essencialmente, pela carbonila na posição 4 e pela presença de outro átomo eletronegativo na posição 1.

A comparação com dados da literatura permitiu confirmar a substância Dj16 como sendo 2-hexil-tetrahidrotiopiran-4-ona (Figura 81), reportada como produto natural para *D. membranacea*, porém o seu isolamento não foi descrito na literatura (dados não publicados, segundo Hay et al., 1998). O mesmo grupo de pesquisa procedeu à síntese desta substância com vistas à avaliação da atividade biológica (inibição da

herbivoria). De forma semelhante ao verificado para Dj13, os resultados indicaram que esta substância apresentou maior inibição da herbivoria pela anfípoda *Ampithoe longimana* do que pelo ouriço *Arbacia punctulata* (HAY et al., 1998; SCHNITZLER et al., 2001).

Figura 81. Estrutura da substância Dj16 (2-hexil-tetrahidropirran-4-ona).

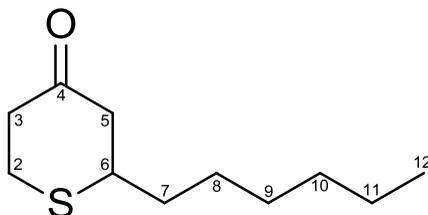


Tabela 10. Dados espectrais de RMN da substância Dj16 obtidos no presente trabalho e em comparação com dados da literatura para a substância 2-hexil-tetrahidropirran-4-ona.

Posição	Dj16 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )			2-hexil-tetrahidropirran-4-ona <sup>a</sup> Schnitzler, Pohnert e Hay, 2001		
	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)	$\delta_{\text{C}}$	HMBC	COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	2,86 (2H, m)	28,2	208,9; 43,4	2,68	2,9 (2H, m)	28,08
3	2,58 (2H, m)	43,4	208,9	2,86	2,9 (2H, m)	43,36
4	-	208,9	-	-	-	208,80
5	2,68 (1H, dd, 14,1; 3,2) 2,38 (1H, dd, 14,1; 13,4)	50,7	208,9; 44,8	3,00; 2,68; 2,38	2,9 (2H, m)	50,65
6	3,00 (1H, m)	44,8	-	2,38; 1,52	2,9 (1H, m)	44,73
7	1,52 (2H, m)	35,6	50,7 44,8; 28,9	3,00; 1,34	1,6 (2H, m)	35,55
8	1,34 (2H, m)	26,8	31,6	1,52	1,3 (2H, m)	26,72
9	1,21 (2H, m)	28,9	31,6	-	1,3 (2H, m)	<sup>b</sup>
10	1,20 (2H, m)	31,6	28,9	-	1,3 (2H, m)	31,55
11	1,22 (2H, m)	22,5	-	0,82	1,3 (2H, m)	22,50
12	0,82 (3H, t, 6,7)	14,0	31,6; 22,5	1,22	0,9 (3H, t)	14,01

<sup>a</sup> A frequência em MHz e o solvente utilizado não foram especificados pelos autores.

<sup>b</sup> Este sinal não foi descrito no trabalho de Schnitzler, Pohnert e Hay, 2001.

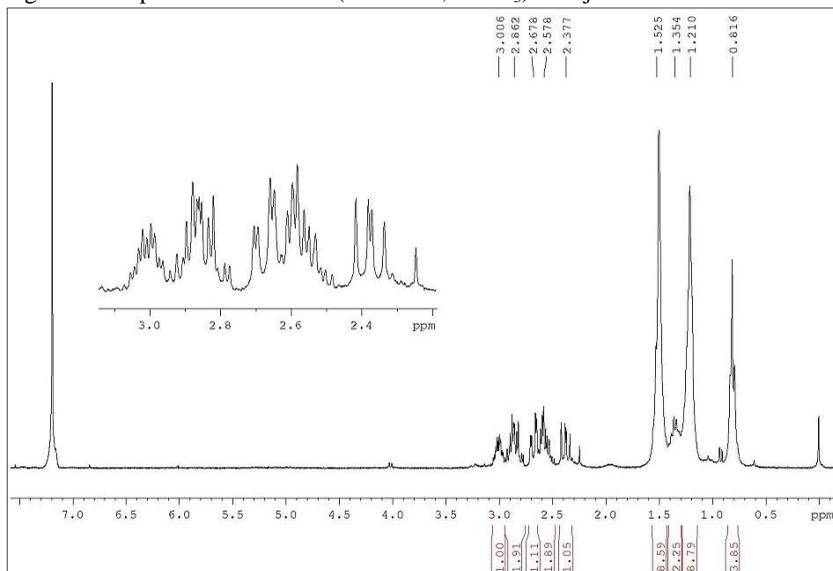
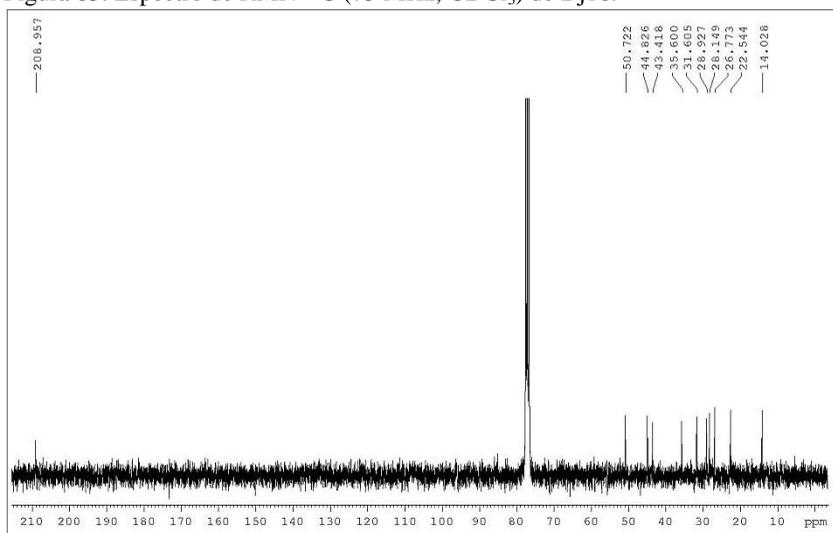
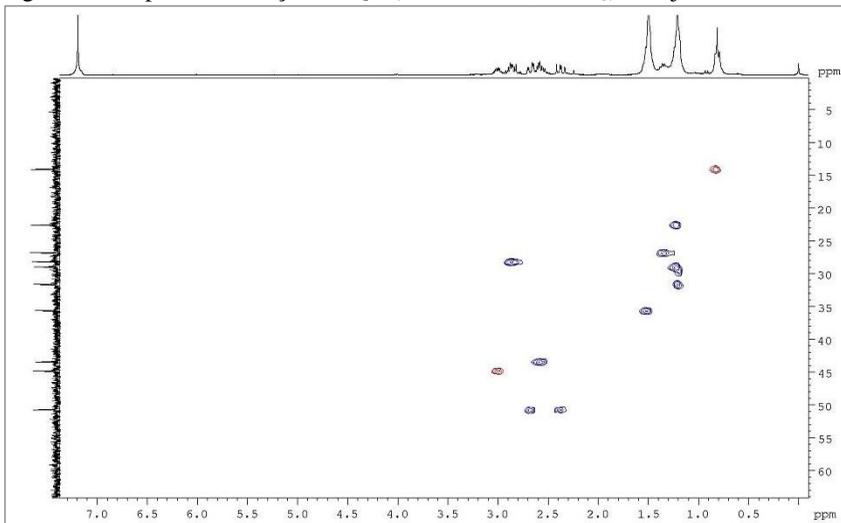
Figura 82. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj16.Figura 83. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj16.

Figura 84. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Dj16.

\* Sinais em azul correspondem a CH<sub>2</sub>, sinais em vermelho correspondem a CH ou CH<sub>3</sub>.

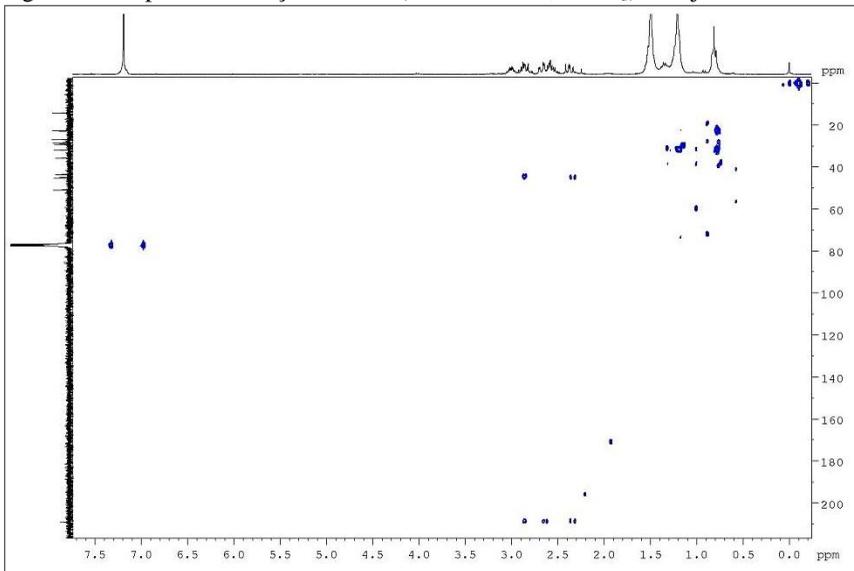
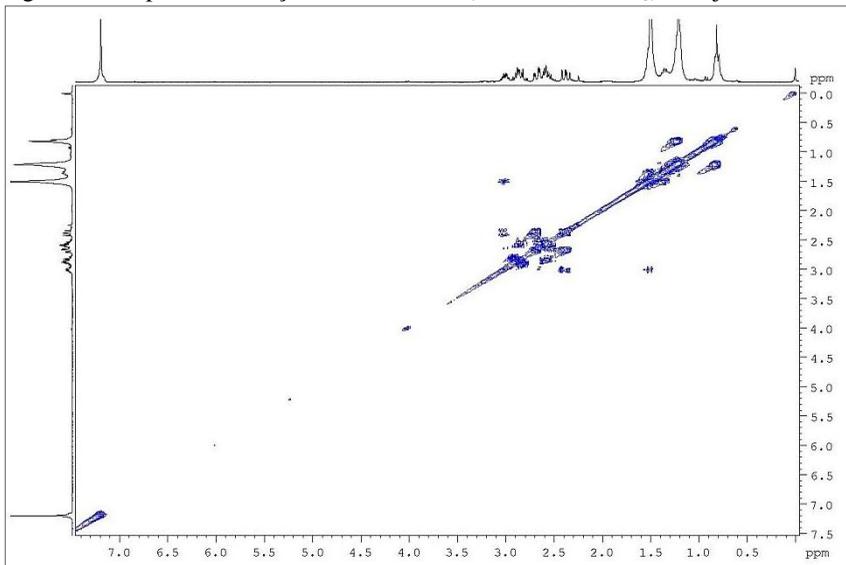
Figura 85. Mapa de correlação HMBC (600/150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Dj16.

Figura 86. Mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ -  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj16.



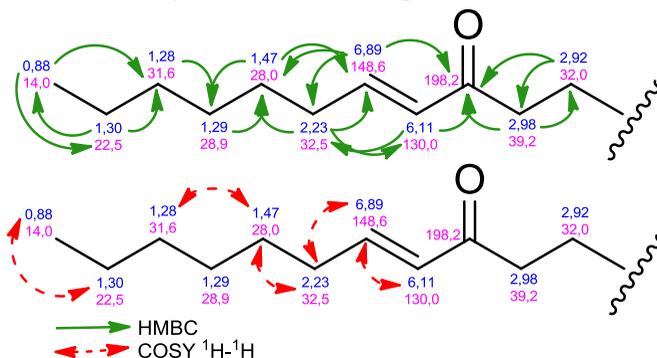
#### 4.2.1.1.8 Substância Dj17

Dj17 foi obtida como um óleo de coloração levemente amarelada das frações J1CL10-3 e J1ES22-3, com rendimento total de 9,4 mg, conforme esquema apresentado na Figura 17.

Apresenta-se na CCD em n-Hex:AcOEt (9:1, v/v) como uma mancha com  $R_f$  0,3, com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor marrom.

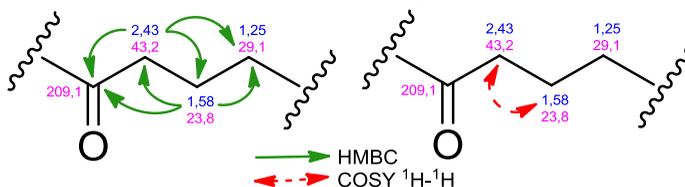
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 91 e Tabela 11) apresentou sinais semelhantes aos dissulfetos descritos anteriormente, sendo que o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 92) apresentou 22 sinais de carbono, indicando a ausência de simetria na molécula. A presença de apenas dois carbonos olefínicos em  $\delta_C$  130,0 (C-4) e  $\delta_C$  148,6 (C-5) e os sinais em  $\delta_H$  6,11 (1H, dt,  $J = 15,9, 1,6$ , H-4) e  $\delta_H$  6,89 (1H, dt,  $J = 15,9, 7,0$  Hz, H-5) no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  integrando para 1H indicam apenas uma ligação dupla na molécula. A comparação dos dados espectrais com substâncias anteriormente descritas possibilitou estabelecer a estrutura parcial apresentada na Figura 87, idêntica ao monômero do composto Dj1.

Figura 87. Primeira estrutura parcial da substância Dj17 referente ao primeiro monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



A segunda porção da estrutura (Figura 88) foi determinada observando-se o sinal de um triplete em  $\delta_{\text{H}}$  2,43 (2H,  $J = 7,5$  Hz, H-4') e do multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  1,58 (2H, m, H-5'). Segundo o mapa de correlação HSQC (Figura 93), os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  2,43 (H-5') estão ligados diretamente ao carbono com deslocamento de  $\delta_{\text{C}}$  43,2 (C-5'). Estes hidrogênios apresentam correlação no mapa de HMBC (Figura 94) com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  209,1 (C-3'), correspondente a carbonila de cetona sem ligação dupla conjugada na posição  $\alpha,\beta$  (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007). Da mesma forma, apresentam correlação com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  23,8 (C-5') e  $\delta_{\text{C}}$  29,1 (C-6'), ligados aos hidrogênios com deslocamentos de  $\delta_{\text{H}}$  1,58 (2H, m, H-5') e  $\delta_{\text{H}}$  1,25 (2H, m, H-6'), respectivamente. A correlação entre os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  2,43 (H-4') e  $\delta_{\text{H}}$  1,58 (H-5') também foi observada no mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Figura 95).

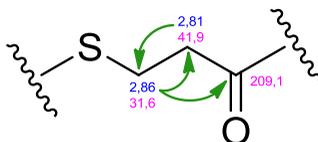
Figura 88. Segunda estrutura parcial da substância Dj17 referente ao segundo monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



De forma semelhante ao composto Dj1, segundo o mapa de correlação HSQC, os carbonos com deslocamentos em  $\delta_{\text{C}}$  31,6 (C-1') e  $\delta_{\text{C}}$

41,9 (C-2') estão ligados a hidrogênios com deslocamento em  $\delta_H$  2,86 (2H, m, H-1') e  $\delta_H$  2,81 (2H, m, H-2'), sendo que o primeiro apresenta também correlação no mapa de HMBC com o carbono em  $\delta_C$  209,1 (C-3'), conforme estrutura parcial apresentada na Figura 89.

Figura 89. Estrutura parcial da substância Dj17 referente ao segundo monômero com as correlações verificadas no mapa de HMBC.



O espectro de massas de alta resolução (ESI(+))EMAR (Figura 96) da substância Dj17 apresentou um íon de  $m/z$  401,2564, referente ao pico do íon molecular  $[M+H]^+$ , outro íon de  $m/z$  423,2361, referente ao aduto de sódio  $[M+Na]^+$ , e outro íon de  $m/z$  823,4859, referente ao respectivo agregado iônico (*ion cluster*)  $[2M+Na]^+$ . O primeiro íon apresentou massa compatível com a fórmula molecular  $C_{22}H_{41}O_2S_2$  (calculado  $m/z$  401,2548), e índice de insaturação igual a 3, correspondente à ligação dupla e às duas carbonilas.

Os dados espectroscópicos foram comparados com aqueles da literatura, sendo possível identificar a substância como sendo a (*E*)-1-(3-oxo-undecil)-dissulfanilundec-4-en-3-ona (Figura 90). Assim como os compostos Dj1 e Dj5, esta substância foi relatada apenas recentemente para a espécie *D. polypodioides* (composto 4, segundo DIMOU et al., 2016), não havendo relatos do seu isolamento de outras espécies.

A substância mostrou-se inativa contra cepas de *S. aureus* multirresistente a medicamentos (SA1199B) e resistente à metilicina (EMRSA-15), e não inibiu a produção de NO em modelo utilizando macrófagos estimulados por LPS (DIMOU et al., 2016)

Figura 90. Estrutura da substância Dj17 (*E*)-1-(3-oxo-undecil)-dissulfanilundec-4-en-3-ona.

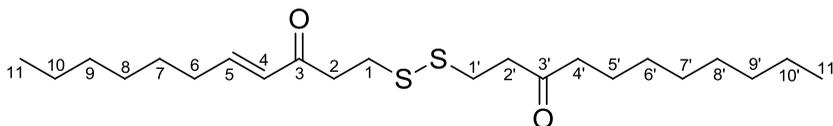


Tabela 11. Dados espectrais de RMN da substância Dj17 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para a substância (*E*)-1-(3-oxo-undecil)-dissulfanilundec-4-en-3-ona.

Posição	Dj17 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )				Composto 4, Dimou et al., 2016 (400/100 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)	$\delta_{\text{C}}$	HMBC	COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	2,92 (2H, m)	32,0	39,2; 198,2	-	2,90 (2H, m)	32,2
2	2,98 (2H, m)	39,2	32,0; 198,2	-	2,96 (2H, m)	39,3
3	-	198,2	-	-	-	198,2
4	6,11 (1H, dt, 15,9; 1,6)	130,0	32,5; 198,2	6,89	6,09 (1H, d, 15,8)	130,1
5	6,89 (1H, dt, 15,9; 7,0)	148,6	28,0; 32,5; 198,2	6,11; 2,23	6,86 (1H, dt, 15,8; 7,1)	148,5
6	2,23 (2H, pq, 6,9)	32,5	28,0; 130,0; 148,6	1,47; 6,89	2,20 (2H, q, 7,1)	32,5
7	1,47 (2H, m)	28,0	28,9; 148,6	2,23; 1,28	1,44 (2H, m)	28,0
8	1,29 (2H, m)	28,9	28,0	-	1,27 (2H, m)	28,9
9	1,28 (2H, m)	31,6	28,9	1,47	1,26 (2H, m)	31,6
10	1,30 (2H, m)	22,5	14,0; 31,6	0,88	1,28 (2H, m)	22,5
11	0,88 (3H, t, 6,6)	14,0	22,5; 31,6	1,30	0,87 (3H, t, 6,7)	14,0
1'	2,86 (2H, m)	31,6	41,9; 209,1	-	2,84 (2H, m)	31,7
2'	2,81 (2H, m)	41,9	31,6	-	2,79 (2H, m)	41,9
3'	-	209,1	-	-	-	209,0
4'	2,43 (2H, t, 7,5)	43,2	23,8; 29,1; 209,1	1,58	2,41 (2H, t, 7,5)	43,2
5'	1,58 (2H, m)	23,8	29,1; 43,2; 209,1	2,43	1,55 (2H, m)	23,8
6'	1,25 (2H, m)	29,1	-	-	1,23 (2H, m)	29,1
7'	1,25 (2H, m)	29,2	-	-	1,23 (2H, m)	29,2
8'	1,25 (2H, m)	29,3	-	-	1,23 (2H, m)	29,3
9'	1,24 (2H, m)	31,8	-	-	1,22 (2H, m)	31,8
10'	1,27 (2H, m)	22,6	-	0,87	1,25 (2H, m)	22,6
11'	0,87 (3H, t, 6,6)	14,1	-	1,27	0,85 (3H, t, 6,7)	14,1

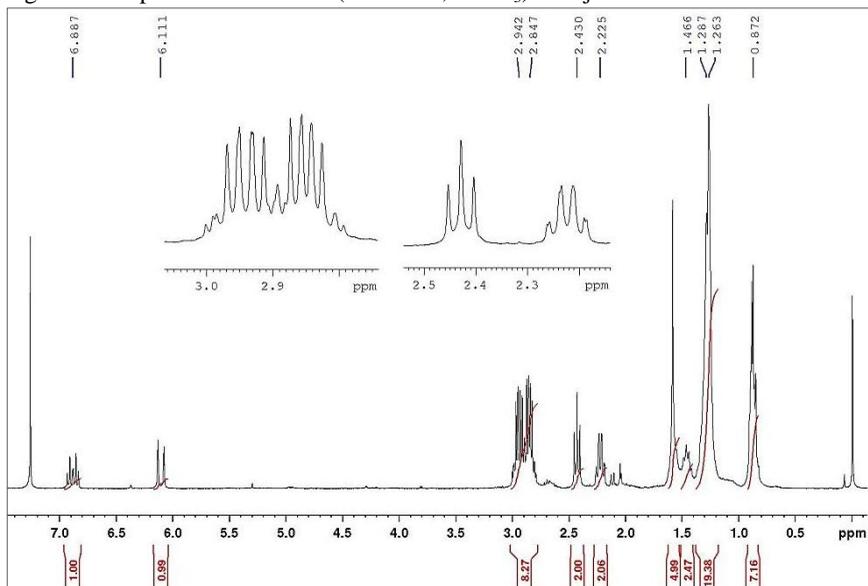
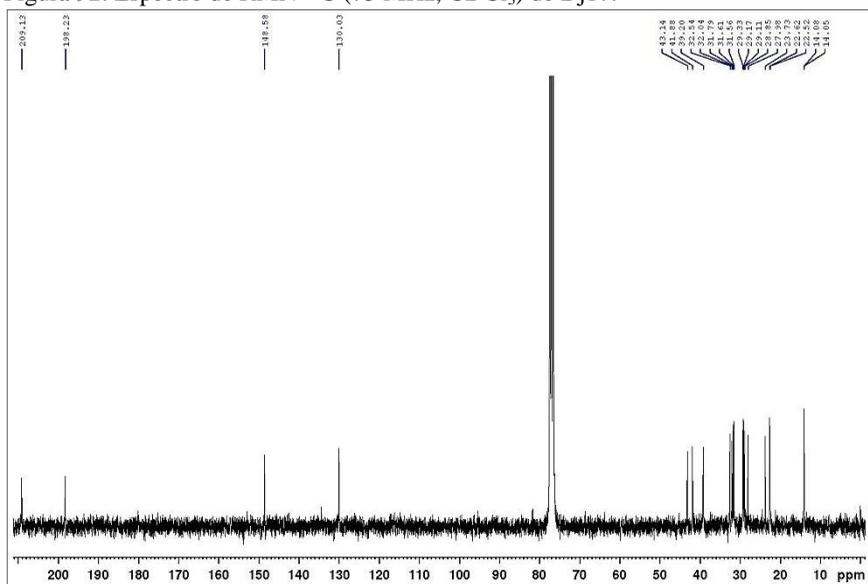
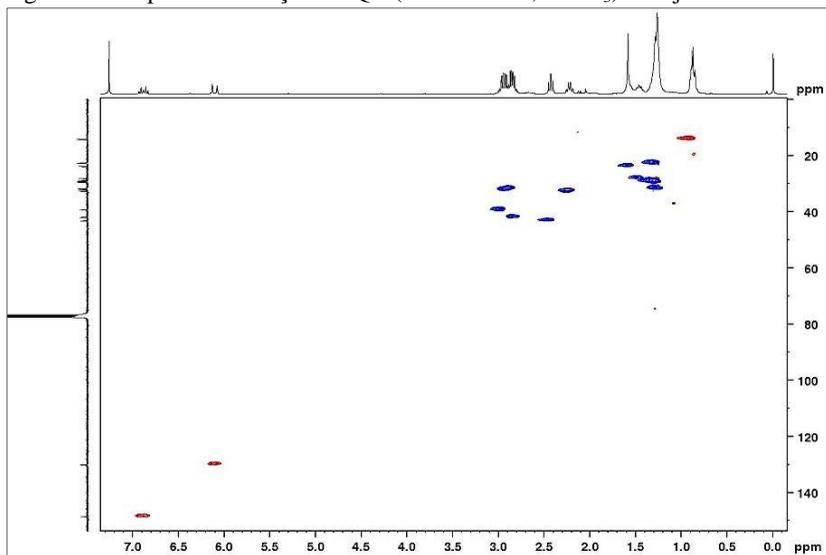
Figura 91. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj17.Figura 92. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj17.

Figura 93. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Dj17.

\* Sinais em azul correspondem a CH<sub>2</sub>, sinais em vermelho correspondem a CH ou CH<sub>3</sub>.

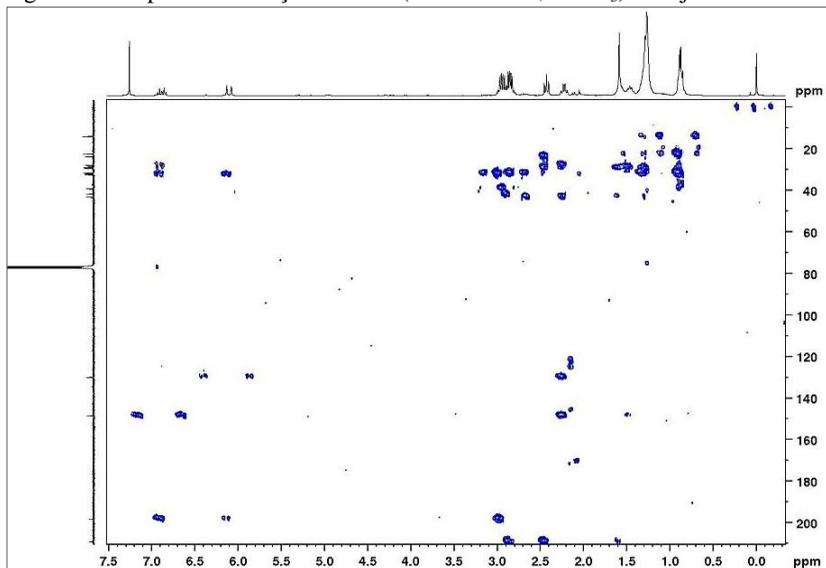
Figura 94. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Dj17.

Figura 95. Mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj17.

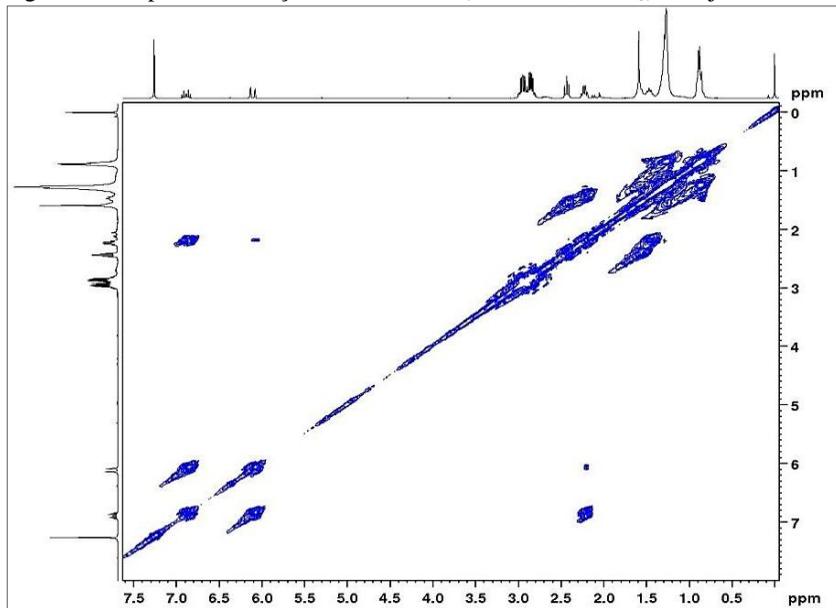
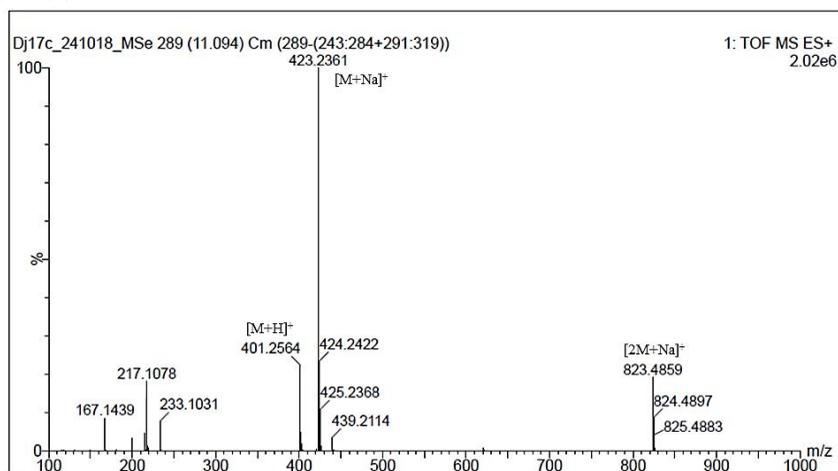


Figura 96. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj17 obtido por [ESI(+)-EMAR].



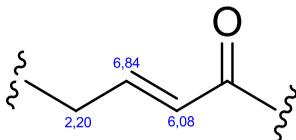
#### 4.2.1.1.9 Substância Dj18

Dj18 foi obtido na forma impura como um óleo de coloração levemente amarelada da fração J1CL14-3, com rendimento total de 0,6 mg, conforme esquema apresentado na Figura 17. Na análise por CLAE apresentou tempo de retenção de 17,8 min (n-Hex:AcOEt 95:5 v/v, 1 mL/min).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 100 e Tabela 12) apresentou sinais bastante semelhantes aos dissulfetos já descritos anteriormente. No entanto, foi possível verificar que a substância não está totalmente pura, o que foi confirmado pela análise por cromatografia gasosa. Conforme o cromatograma apresentado na Figura 101, a presente substância corresponde ao pico majoritário com Rf de 15,78 min. É possível verificar a existência de pelo menos outras duas substâncias eluindo em 23,06 min e 35,36 min, as quais foram identificadas como um derivado de ácido ftálico e  $\alpha$ -tocoferol, respectivamente, por meio da comparação dos espectros de fragmentação com a biblioteca da base de dados NIST. Dessa forma, devido à pequena quantidade de amostra e a presença de outros constituintes, não foi possível obter espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ , nem espectros bidimensionais para esta substância.

A análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  permitiu excluir alguns sinais correspondentes às impurezas identificadas. O sinal em  $\delta_{\text{H}}$  6,84 (1H, dt,  $J = 15,8, 6,7$  Hz, H-5) e  $\delta_{\text{H}}$  6,11 (1H, dt,  $J = 15,8, 1,4$  Hz, H-4), bem como em  $\delta_{\text{H}}$  2,20 (2H, pq,  $J = 7,7$  Hz, H-6) indicam tratar-se de estrutura semelhante aos compostos do tipo  $\text{C}_{11}$  já reportados anteriormente, ou seja, contendo uma carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada, conforme estrutura parcial apresentada na Figura 97.

Figura 97. Estrutura parcial da substância Dj18 referente à carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada.



No entanto, os metilenos em  $\delta_{\text{H}}$  2,75 (2H, t,  $J = 6,4$  Hz, H-1) e  $\delta_{\text{H}}$  2,83 (2H, t,  $J = 6,4$  Hz, H-2) apresentam-se mais blindados, sugerindo um ambiente químico com menor efeito retirador de elétrons. Além disso, observa-se a presença de uma metila ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  2,09 (3H, s,  $\text{SCH}_3$ ), a qual não apresenta acoplamento com outros hidrogênios da estrutura,

semelhante ao verificado anteriormente para a substância Dj7 ( $\delta_H$  2,40, 3H, s), porém menos deslocada no espectro que esta.

O espectro de massas de alta resolução (ESI(+))EMAR (Figura 103) da substância Dj18 apresentou um íon de  $m/z$  215,1487, referente ao pico do íon molecular  $[M+H]^+$  e outro íon de  $m/z$  237,1306, referente ao aduto de sódio  $[M+Na]^+$ . O primeiro íon apresentou massa compatível com a fórmula molecular  $C_{12}H_{23}OS$  (calculado  $m/z$  215,1470), e índice de insaturação igual a 2, correspondente à ligação dupla e à carbonila. A presença de apenas um átomo de enxofre na estrutura confere menor efeito de desblindagem sobre o grupamento metila em 2,09 (SCH<sub>3</sub>) e os metilenos em  $\delta_H$  2,75 (H-1) e  $\delta_H$  2,83 (H-2), justificando as diferenças espectrais observadas em relação ao composto Dj7.

O perfil de fragmentação observado no espectro de CG-EM (IE, 70 eV) (Figura 102) auxiliou na confirmação da estrutura proposta, identificando-se alguns íons característicos:  $m/z$  214 (29),  $m/z$  198 (0,1),  $m/z$  167 (32),  $m/z$  139 (37), e  $m/z$  129 (79). O esquema de fragmentação proposto está apresentado na Figura 99.

A comparação com os dados na literatura permitiu confirmar a identificação do composto como (*E*)-1-(metiltio)undec-4-en-3-ona. Esta substância foi apenas relatada como produto de síntese por Lenden et al. (2011), sendo este o primeiro registro como produto natural.

Figura 98. Estrutura do composto Dj18 ((*E*)-1-(metiltio)undec-4-en-3-ona).

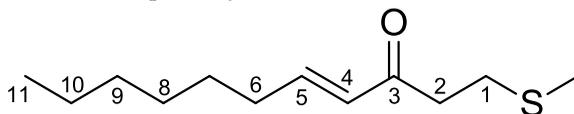


Figura 99. Proposta de fragmentação do composto Dj18 (IE-EM, 70 eV).

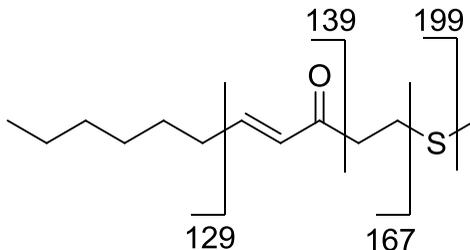


Tabela 12. Dados espectrais de RMN da substância Dj18 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para a substância (*E*)-1-(metiltio)undec-4-en-3-ona.

	DJ18 (400/100 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	( <i>E</i> )-1-(metiltio)undec-4-en-3-ona (Lenden et al., 2011) (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> )
Posição	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_H$ (mult., J Hz)
1	2,75 (2H, t, 6,4)	2,73-2,69 (2H, m)
2	2,83 (2H, t, 6,4)	2,82-2,78 (2H, m)
3	-	-
4	6,08 (1H, dt, 15,8; 1,4)	6,05 (1H, d, 15,9)
5	6,84 (1H, dt 15,8; 6,7)	6,81 (1H, dt, 15,9; 6,9)
6	2,20 (2H, pq, 7,0)	2,21-2,14 (2H, m)
7	1,44 (2H, m)	1,45-1,38 (2H, m)
8	1,2-1,4 (2H, m)	1,31-1,28 (2H, m)
9	1,2-1,4 (2H, m)	1,31-1,28 (2H, m)
10	1,2-1,4 (2H, m)	1,31-1,28 (2H, m)
11	0,83	0,85-0,81 (2H, m)
SCH <sub>3</sub>	2,09 (3H, s)	2,07 (3H, s)

Figura 100. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Dj18.

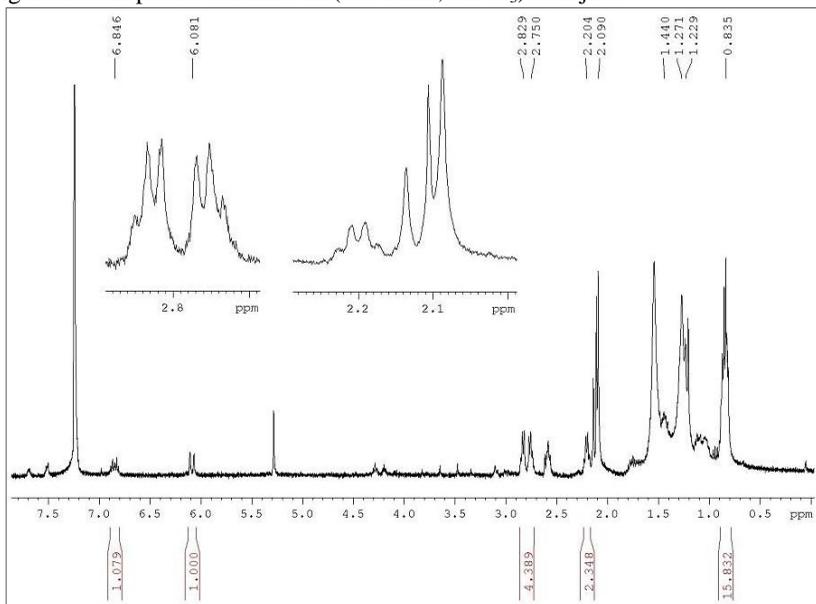


Figura 101. Cromatograma da fração J1CL14-3 obtido por CG-EM.

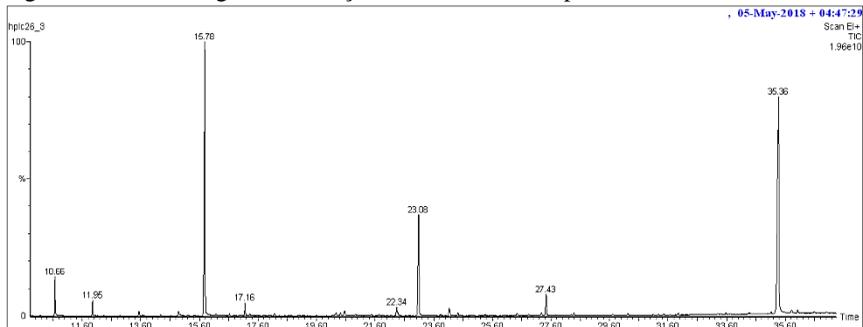


Figura 102. Espectro de massas do composto Dj18 obtido por CG-EM (EI, 70 eV).

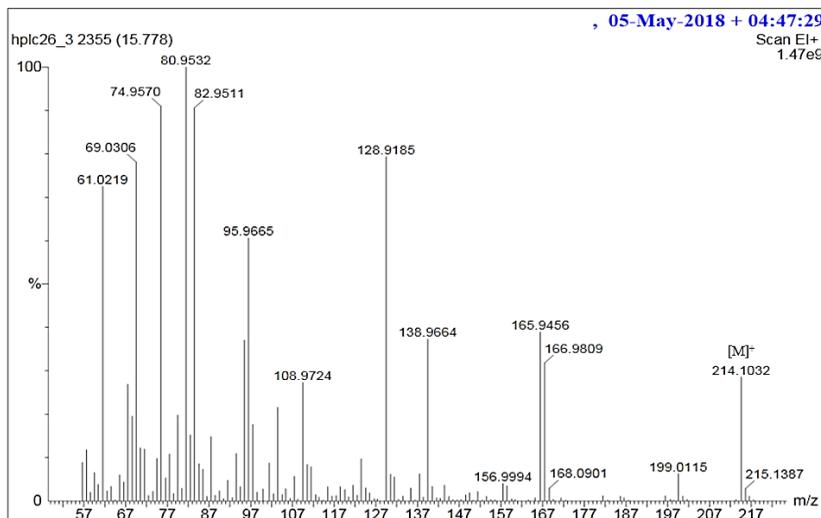
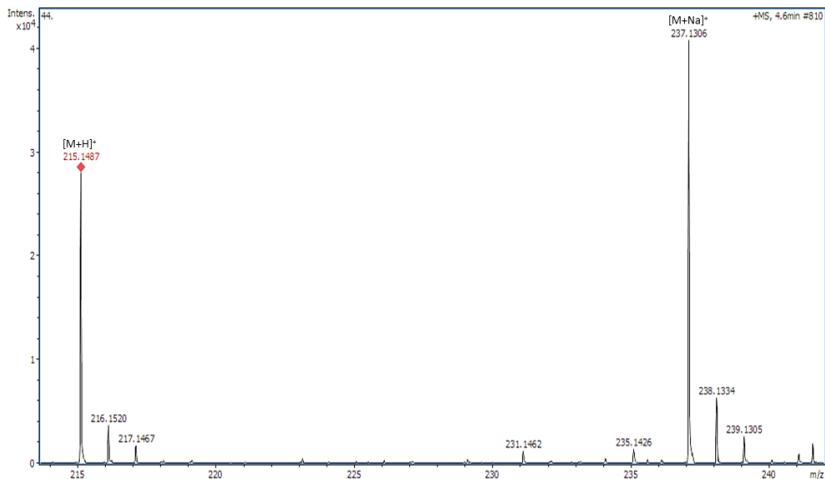


Figura 103. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj18 obtido por [ESI(+)-EMAR].



#### 4.2.1.1.10 Substância Dj22

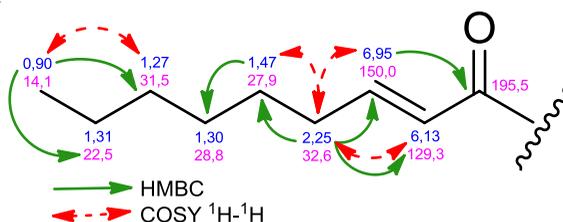
Dj22 foi obtida como um óleo de coloração levemente amarelada das frações J1ES21-6, com rendimento total de 3,3 mg, e na forma impura da fração J1ES20-5, conforme esquema apresentado na Figura 19.

Apresenta-se na CCD em *n*-Hex:AcOEt (7:3, v/v) como uma mancha com  $R_f$  0,3, com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor amarela escura.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 107 e Tabela 13) apresentou sinais semelhantes aos dissulfetos já reportados, sugerindo tratar-se de estrutura similar. Por meio do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  foi possível observar os sinais correspondentes à carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada, com hidrogênios olefínicos ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  6,13 (1H, dt,  $J = 15,8, 1,5$  Hz, H-4) e  $\delta_{\text{H}}$  6,95 (1H, dt,  $J = 15,8, 6,9$  Hz, H-5), os quais estão diretamente ligados aos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  129,3 e  $\delta_{\text{C}}$  150,0, segundo o mapa de HSQC (Figura 109). Estes metinos apresentam correlação entre si no mapa de HMBC (Figura 110), bem como com o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  195,5 (C-3), correspondente ao carbono da carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada. Nota-se que os sinais correspondentes aos carbonos olefínicos estão levemente mais desblindados quando comparados aos espectros dos compostos descritos anteriormente, indicando a existência de algum sistema retirador de elétrons.

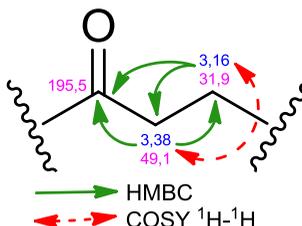
Adicionalmente, no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  é possível observar a presença do metileno ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  2,25 (2H, pq,  $J = 6,9$  Hz, H-6), o qual correlaciona com os metinos olefínicos no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Figura 111), bem como com o metileno em  $\delta_{\text{H}}$  1,47 (2H, m, H-7), diretamente ligado ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  27,9 (C-7). Os demais sinais correspondentes ao restante da cadeia alifática também foram observados, possibilitando sugerir a estrutura parcial apresentada nas Figuras 104.

Figura 104. Primeira estrutura parcial da substância Dj22 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



Ainda no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  observa-se a presença de dois tripletos ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  3,16 (2H, t,  $J = 7,1$  Hz, H-1) e  $\delta_{\text{H}}$  3,38 (2H, t,  $J = 7,1$  Hz, H-2), os quais apresentam acoplamento vicinal entre si, e estão ligados diretamente aos carbonos ressonando em  $\delta_{\text{C}}$  31,9 e  $\delta_{\text{C}}$  49,1, segundo o mapa de HSQC. Adicionalmente, verifica-se que estes metilenos estão vicinais à carbonila, uma vez que ambos possuem correlação com o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  195,5 (C-3), conforme estrutura parcial apresentada na Figura 105.

Figura 105. Segunda estrutura parcial da substância Dj22 com as correlações verificadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



A estrutura proposta é semelhante às reportadas anteriormente, no entanto, verifica-se que estes metilenos apresentam-se mais desblindados, indicando a presença de um sistema retirador de elétrons mais intenso.

No espectro do RMN de  $^1\text{H}$  observou-se a presença de um simpleto ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  2,95 (3H, s), o qual apresentou correlação direta com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  42,0, e nenhuma correlação no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . Os dados indicam tratar-se de uma metila mais desprotegida, possivelmente devido à presença de mais de átomos de enxofre (> 4) ou à ligação a um átomo mais eletronegativo que o enxofre (Figura 106). Dessa forma, o espectro de massas ainda é necessário para confirmação da estrutura.

Figura 106. Estrutura parcial proposta para o composto Dj22.

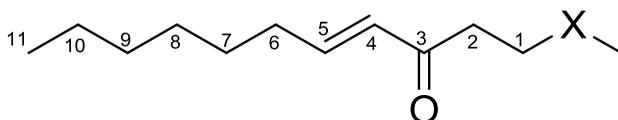


Tabela 13. Dados espectrais de RMN da substância Dj22 obtidos no presente trabalho.

<b>Dj22</b> (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )				
Posição	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)	$\delta_{\text{C}}$	HMBC	COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$
1	3,16 (2H, t, 7,1)	31,9	49,1; 195,5	3,38
2	3,38 (2H, t, 7,1)	49,1	31,9; 195,5	3,16
3	-	195,5	-	-
4	6,13 (1H, dt, 15,8; 1,5)	129,3	-	2,25; 6,95
5	6,95 (1H, dt, 15,8; 6,9)	150,0	195,5	2,25; 6,13
6	2,25 (2H, pq, 6,9)	32,6	27,9; 129,3; 150,0	1,47; 6,13; 6,95
7	1,47 (2H, m)	27,9	28,8	2,25
8	1,30 (2H, m)	28,8	-	-
9	1,27 (2H, m)	31,5	-	0,90
10	1,31 (2H, m)	22,5	-	-
11	0,90 (3H, t, 6,7)	14,1	22,5; 31,5	1,27
X-CH <sub>3</sub>	2,95 (3H, s)	42,0	-	-

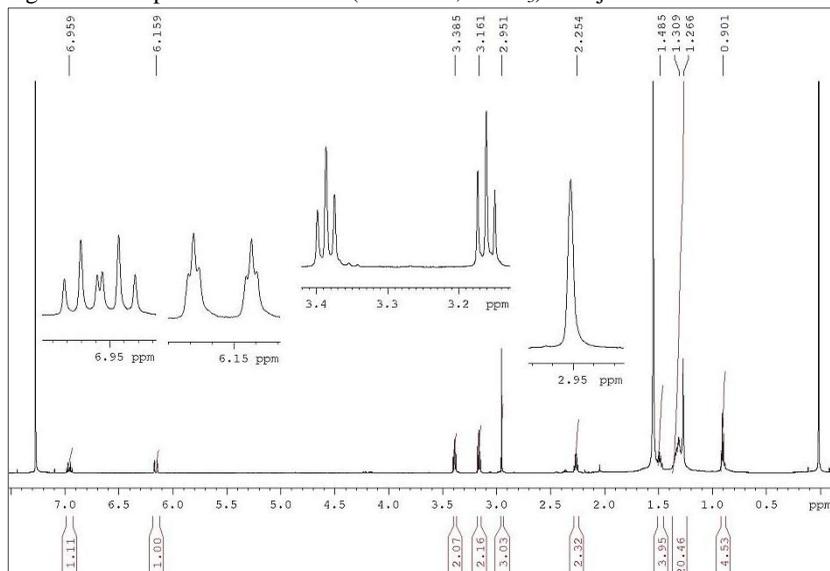
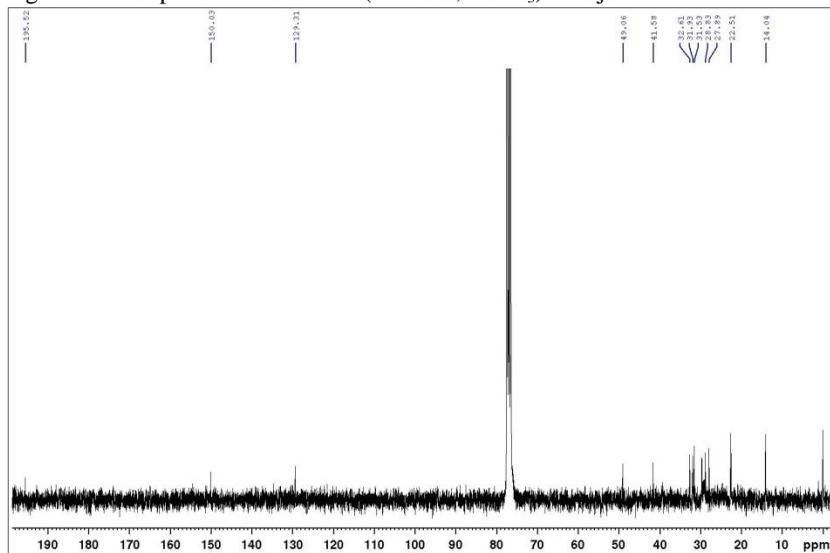
Figura 107. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj22.Figura 108. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj22.

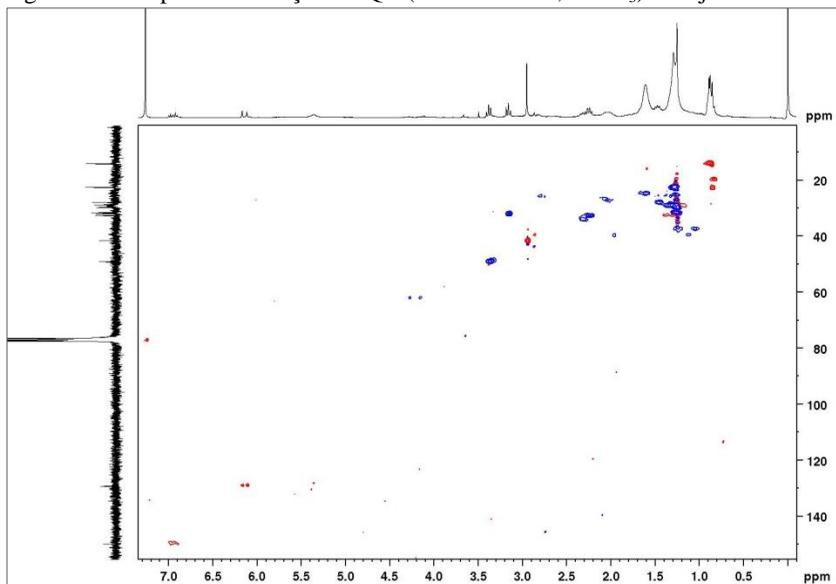
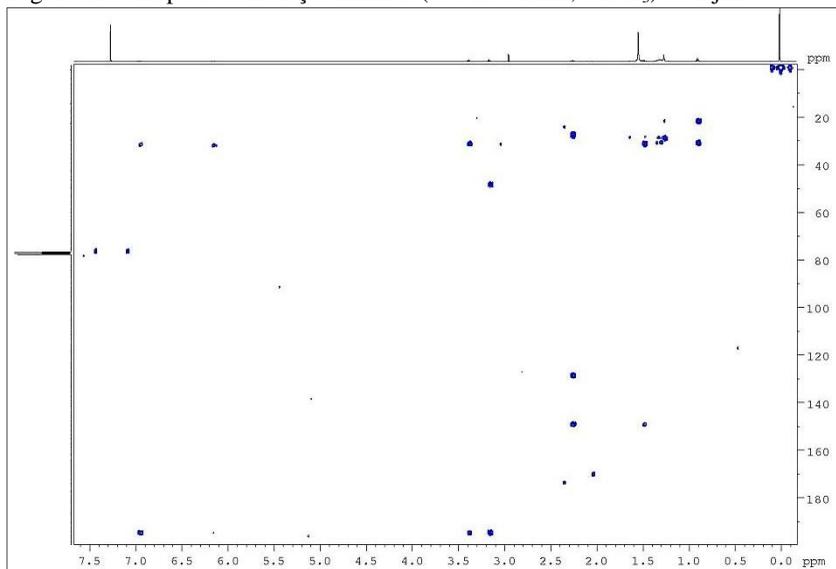
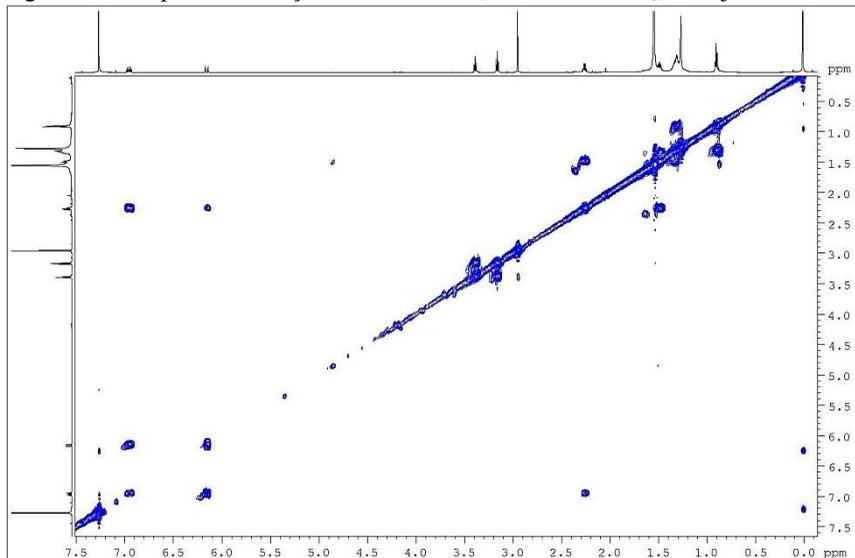
Figura 109. Mapa de correlação HSQC (400/100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj22.Figura 110. Mapa de correlação HMBC (400/100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj22.

Figura 111. Mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj22.



#### 4.2.1.1.11 Substância Dj23

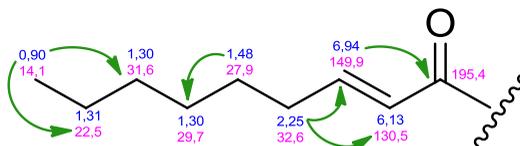
Dj23 foi obtido como um óleo de coloração levemente amarelada da fração J1ES21-4, com rendimento total de 2,5 mg, conforme esquema apresentado na Figura 19.

Apresenta-se na CCD em n-Hex:AcOEt (7:3, v/v) como uma mancha com  $R_f$  0,6, com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor amarela escura.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 115 e Tabela 14) apresentou um padrão de sinais bastante semelhante ao composto Dj22. Dessa forma, é possível observar os metinos olefínicos ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  6,13 (1H, dt,  $J = 15,8, 1,4$  Hz, H-4) e  $\delta_{\text{H}}$  6,94 (1H, dt,  $J = 15,8, 6,7$  Hz, H-5), os quais estão ligados diretamente aos carbonos que ressonam em  $\delta_{\text{C}}$  130,5 (C-4) e  $\delta_{\text{C}}$  149,9 (C-5), segundo o mapa de HSQC (Figura 117). O metino mais desblindado apresenta correlação no mapa de HMBC (Figura 118) com o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  195,4 (C-3), correspondente à carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada. Vicinal ao sistema olefínico, é possível observar a presença dos hidrogênios metilênicos ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  2,25 (2H, pq,  $J = 7,0$  Hz, H-6), os quais correlacionam com os hidrogênios olefínicos no mapa de HMBC. Os

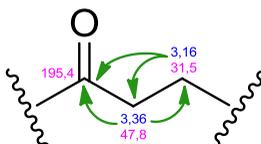
demais sinais correspondentes ao restante da cadeia alifática também foram observados, concluindo-se tratar da mesma estrutura parcial reportada para o composto Dj22, conforme Figura 112.

Figura 112. Primeira estrutura parcial da substância Dj23 com correlações observadas no mapa de HMBC.



Da mesma forma que em Dj22, observou-se a presença de tripletos ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  3,16 (2H, t,  $J = 6,9$  Hz, H-1) e  $\delta_{\text{H}}$  3,36 (2H, t,  $J = 6,9$  Hz, H-2), os quais estão ligados diretamente aos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  31,5 (C-1) e  $\delta_{\text{C}}$  47,8 (C-2), segundo o mapa de HSQC. Ambos possuem correlação com a carbonila em  $\delta_{\text{C}}$  195,4 (C-3) no mapa de HMBC, conforme estrutura parcial apresentada na Figura 113.

Figura 113. Segunda estrutura parcial da substância Dj23 com correlações observadas no mapa de HMBC.



Dessa forma, por conta dos deslocamentos químicos, acredita-se que há mais de três átomos de enxofre na estrutura ligando dois monômeros (Figura 114), porém, o espectro de massas de alta resolução ainda é necessário para confirmação da estrutura.

Figura 114. Estrutura parcial proposta para o composto Dj23.

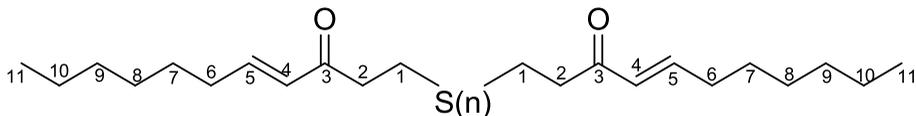


Tabela 14. Dados espectrais de RMN da substância Dj23 obtidos no presente trabalho.

<b>Dj23</b> <b>(300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</b>			
<b>Posição</b>	<b><math>\delta_H</math> (mult., J Hz)</b>	<b><math>\delta_C</math></b>	<b>HMBC</b>
1	3,16 (2H, t, 6,9)	31,5	47,8; 195,4
2	3,36 (2H, t, 6,9)	47,8	31,5; 195,4
3	-	195,4	-
4	6,13 (1H, dt, 15,8; 1,4)	130,5	-
5	6,94 (1H, dt, 15,8; 6,7)	150,0	195,4
6	2,25 (2H, pq, 7,0)	32,6	130,5; 149,9
7	1,48 (2H, m)	27,9	-
8	1,31 (2H, m)	29,7	-
9	1,30 (2H, m)	31,6	-
10	1,31 (2H, m)	22,5	-
11	0,90 (3H, t, 6,7)	14,1	22,6; 31,6

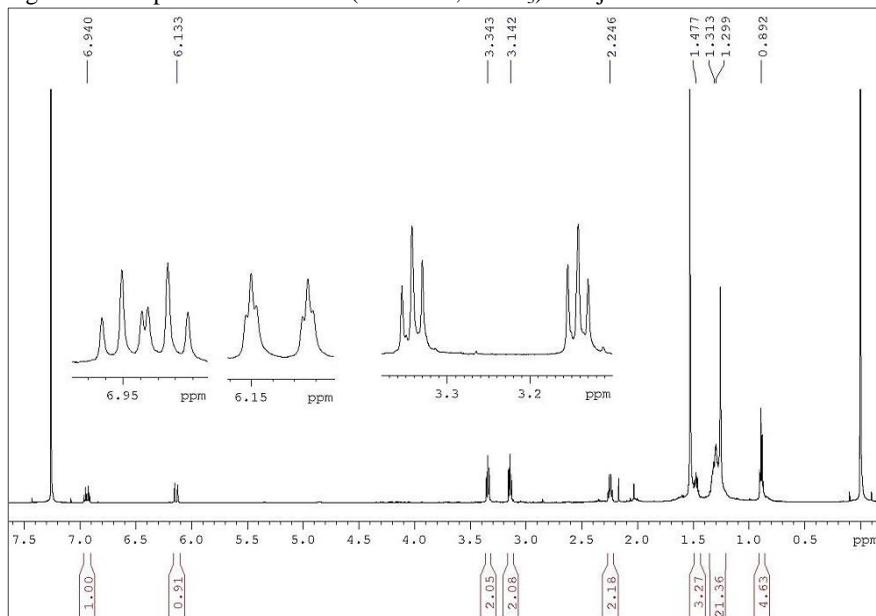
Figura 115. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Dj23.

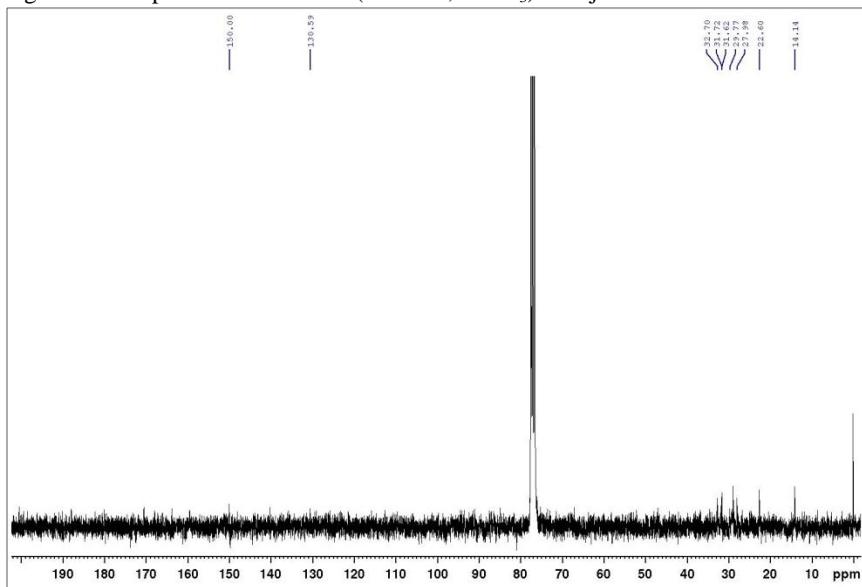
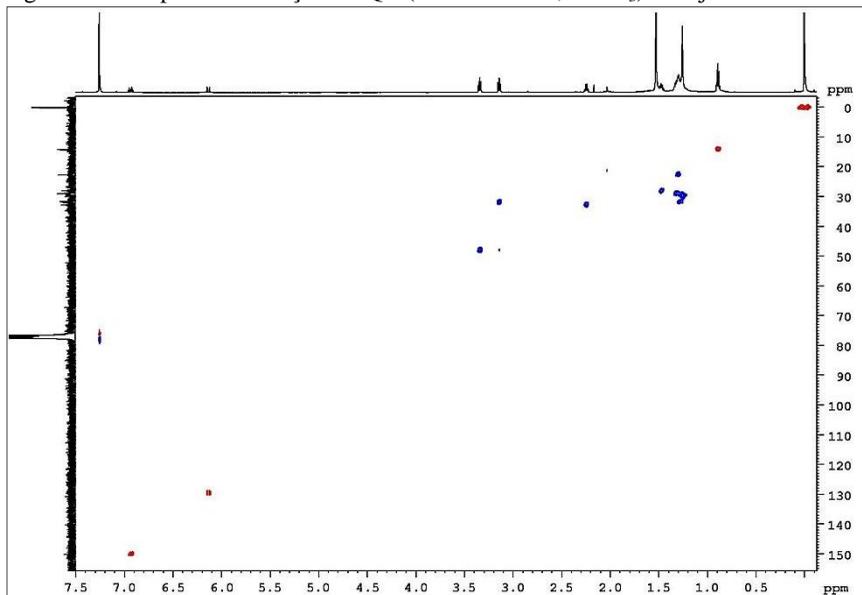
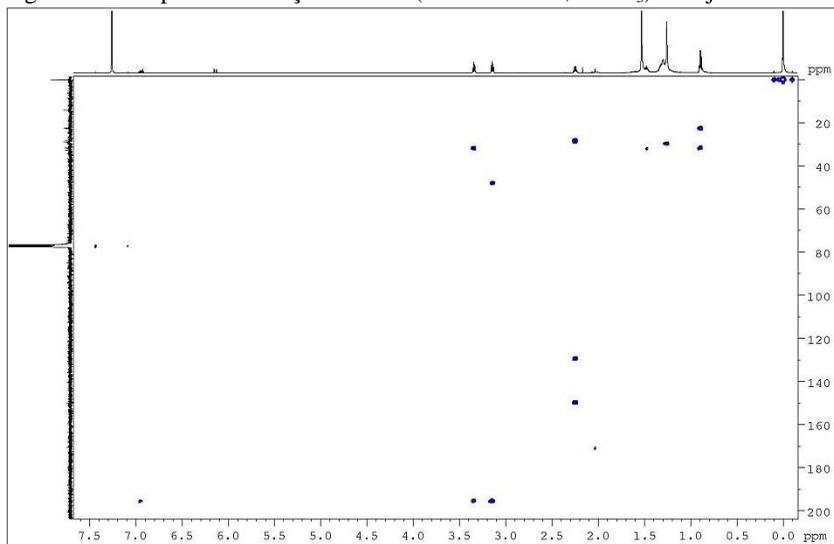
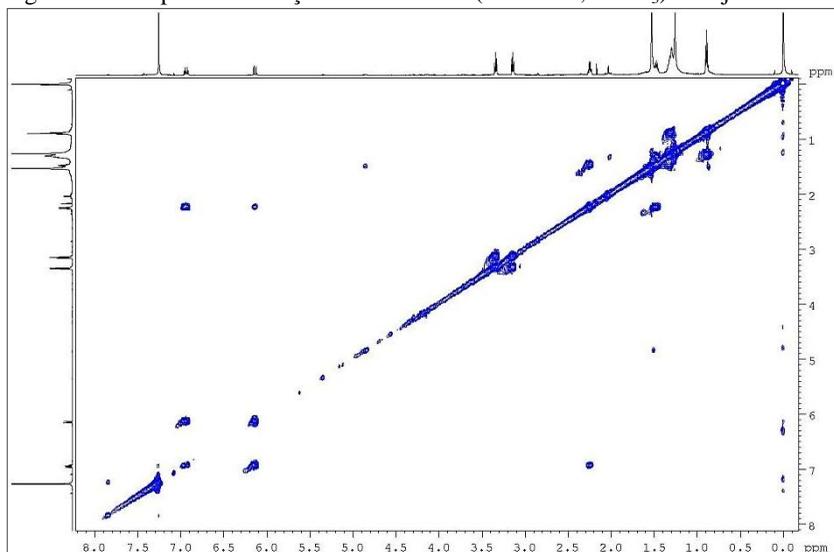
Figura 116. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj23.Figura 117. Mapa de correlação HSQC (400/100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj23.

Figura 118. Mapa de correlação HMBC (400/100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj23.Figura 119. Mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj23.

#### 4.2.1.1.12 Substância Dj26

Dj26 foi obtido como composto minoritário em mistura com Dj7 como um óleo de coloração levemente amarelada da fração J1ES17-4-5, com rendimento total de 5,9 mg, conforme esquema apresentado na Figura 19.

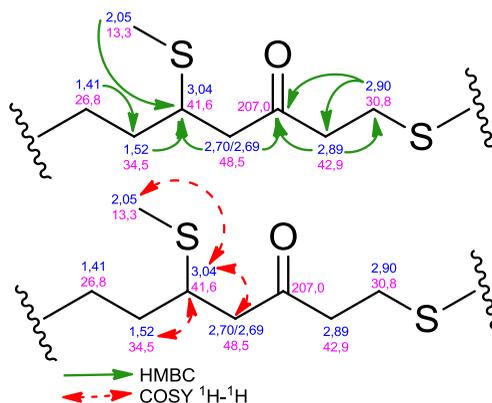
Apresenta-se na CCD em n-Hex:AcOEt (95:5, v/v) como uma mancha com Rf 0,6, que não extingue a fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor marrom.

Além dos sinais atribuídos para o composto Dj7, o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 122 e Tabela 16) apresenta sinais já observados anteriormente para o composto Dj5, destacando-se os sinais ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  2,69 (1H, dd,  $J = 16,5, 7,6$ , H-4) e  $\delta_{\text{H}}$  2,70 (1H, dd,  $J = 16,5, 7,6$ , H-4), correspondentes aos hidrogênios não equivalentes na posição H-4, bem como o grupamento tiometila em  $\delta_{\text{H}}$  2,05 (3H, s,  $\text{SCH}_3$ ). No entanto, por conta da diferença de Rf entre Dj26 e Dj5 observada por cromatografia em camada delgada, os dados sugeriram tratar-se de algum derivado, possivelmente apenas o monômero, o que foi confirmado posteriormente pelos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e bidimensionais.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 123) verificou-se a presença de 24 sinais de carbonos, sendo 12 sinais de maior intensidade, atribuídos ao composto Dj7 (Tabela 15). Como pode ser visualizado na Tabela 15, os demais sinais do espectro apresentam deslocamentos químicos praticamente idênticos ao monômero saturado do composto Dj5, com exceção dos sinais em  $\delta_{\text{C}}$  22,8 e  $\delta_{\text{C}}$  30,8, este último correspondente à posição C-1, apresentando-se levemente mais blindado em relação a Dj5 ( $\delta_{\text{H}}$  31,3). Esta característica também foi observada para o composto Dj7, com uma diferença de 0,6 ppm em relação ao monômero de Dj1.

A estrutura parcial proposta, juntamente com as correlações observadas nos mapas de HSQC (Figura 125), HMBC (Figura 126) e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Figura 127), está apresentada na Figura 120.

Figura 120. Estrutura parcial da substância Dj26 com as correlações observadas nos mapas de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



De maneira similar ao também observado para Dj7, o sinal ressonando em  $\delta_{\text{C}}$  22,8 (SCH<sub>3</sub>) apresentou correlação direta com um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  2,40 (3H, s, SCH<sub>3</sub>) no mapa de HSQC, indicando tratar-se de uma metila desprotegida. Adicionalmente, nenhuma correlação a longa distância foi observada no mapa de HMBC.

O espectro de massas de alta resolução (ESI(+))EMAR (Figura 128) da substância Dj26 apresentou um íon de  $m/z$  317,1036, referente ao aduto de sódio  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Este íon apresentou massa compatível com a fórmula molecular C<sub>13</sub>H<sub>26</sub>OS<sub>3</sub>Na (calculado  $m/z$  317,1043), e índice de insaturação igual a 1, correspondente à carbonila.

Dessa forma, o conjunto dos dados permitiu identificar a substância como 1-(metildissulfanil)-5-(metiltio)undecan-3-ona (Figura 121), considerada inédita na literatura.

Tabela 15. Dados espectrais de RMN de  $^{13}\text{C}$  obtidos para a fração J1ES17-4-5 e sua comparação com o monômero saturado do composto Dj5.

Fração J1ES17-4-5 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ )		Dj5 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ )
Dj26 ( $\delta_{\text{C}}$ )	Dj7 ( $\delta_{\text{C}}$ )	Monômero saturado ( $\delta_{\text{C}}$ )
<b>207,1</b>	-	207,1 (C-3)
198,3	198,4 (C-3)	-
148,4	148,5 (C-5)	-
130,1	130,1 (C-4)	-
<b>48,5</b>	-	48,5 (C-4)
<b>42,9</b>	-	42,9 (C-2)
<b>41,6</b>	-	41,6 (C-5)
39,4	39,3 (C-2)	-
<b>34,5</b>	-	34,5 (C-6)
32,5	32,5 (C-6)	-
<b>31,7</b>	-	31,7 (C-9)
31,6	31,5 (C-9)	-
31,4	31,3 (C-1)	-
<b>30,8</b>	-	30,8 (C-1)
<b>29,1</b>	-	29,1 (C-8)
28,8	28,9 (C-8)	-
28,0	27,9 (C-7)	-
<b>26,8</b>	-	26,8 (C-7)
22,9	22,9 (SSCH <sub>3</sub> )	-
<b>22,8</b>	-	22,8 (SSCH <sub>3</sub> )
22,6	22,5 (C-10)	-
<b>22,5</b>	-	22,5 (C-10)
14,0	14,0 (C-11)	-
<b>14,0</b>	-	14,0 (C-11)
<b>13,3</b>	-	13,3 (SCH <sub>3</sub> )

Figura 121. Estrutura da substância Dj26 (1-(metildissulfanil)-5-(metiltio)undecan-3-ona).

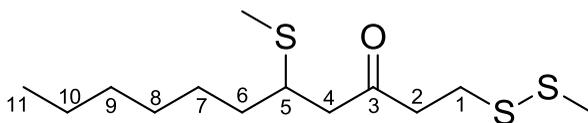


Tabela 16. Dados espectrais de RMN da substância Dj26 obtidos no presente trabalho.

<b>Dj26</b> (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )				
Posição	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$	HMBC	COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H
1	2,90 (2H, m)	30,8	42,9; 207,0	-
2	2,89 (2H, m)	42,9	30,8; 207,0	-
3	-	207,0	-	-
4	2,70 (1H, dd, 16,5; 7,6) 2,68 (1H, dd, 16,5; 6,4)	48,5	41,6; 207,0	-
5	3,04 (1H, m)	41,6	-	1,52; 2,05; 2,70/2,68
6	1,52 (2H, m)	34,5	41,6	3,04
7	1,41 (2H, m)	26,8	34,5	-
8	1,30 (2H, m)	29,1	-	-
9	1,28 (2H, m)	31,7	-	-
10	1,29 (2H, m)	22,5	-	-
11	0,89 (3H, t, 6,7)	14,0	-	-
S-CH <sub>3</sub>	2,05 (3H, s)	13,3	41,6	3,04
S-S-CH <sub>3</sub>	2,40 (3H, s)	22,8	-	-

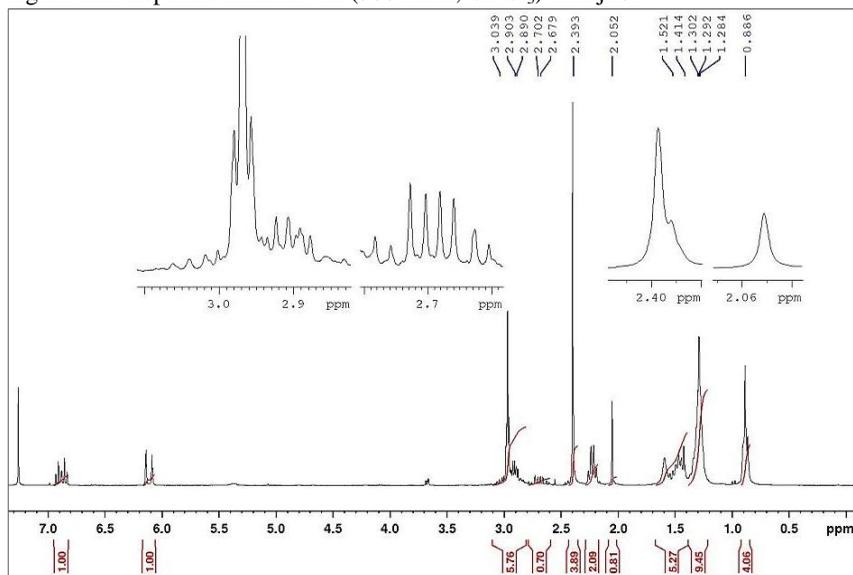
Figura 122. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Dj26.

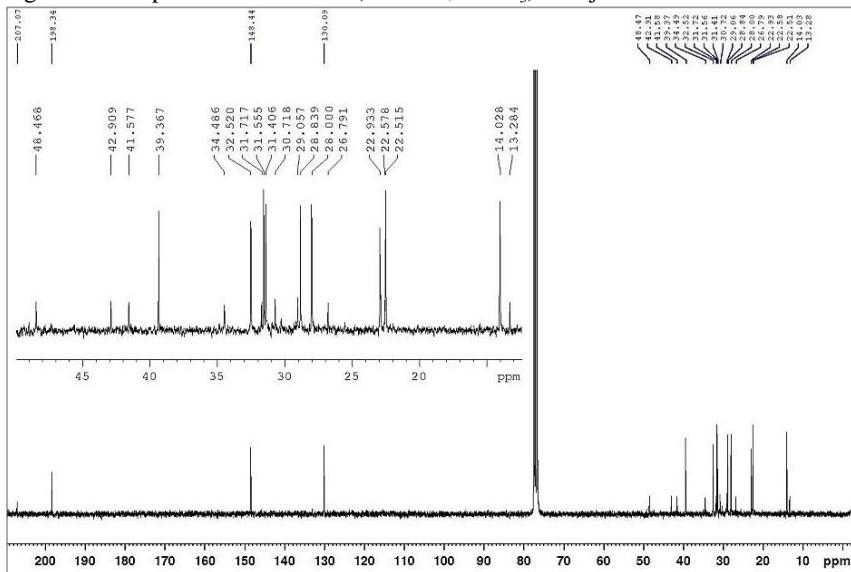
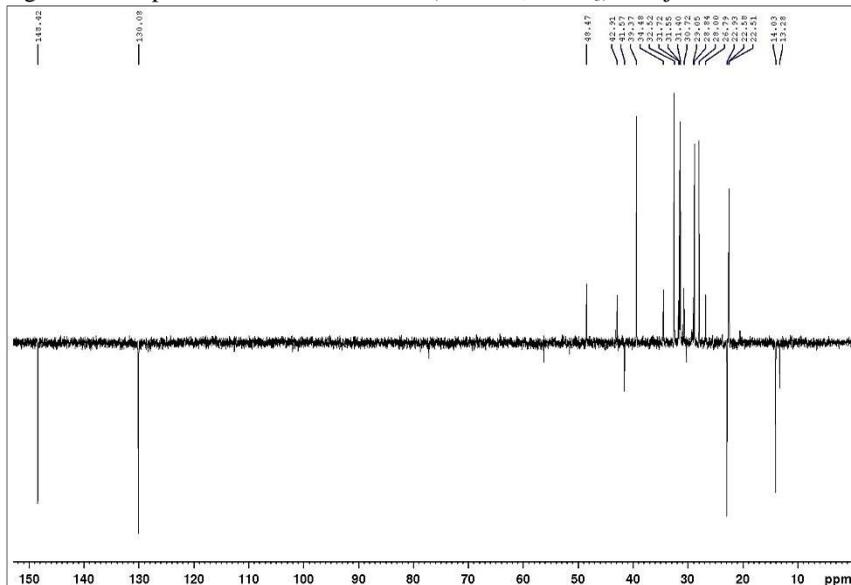
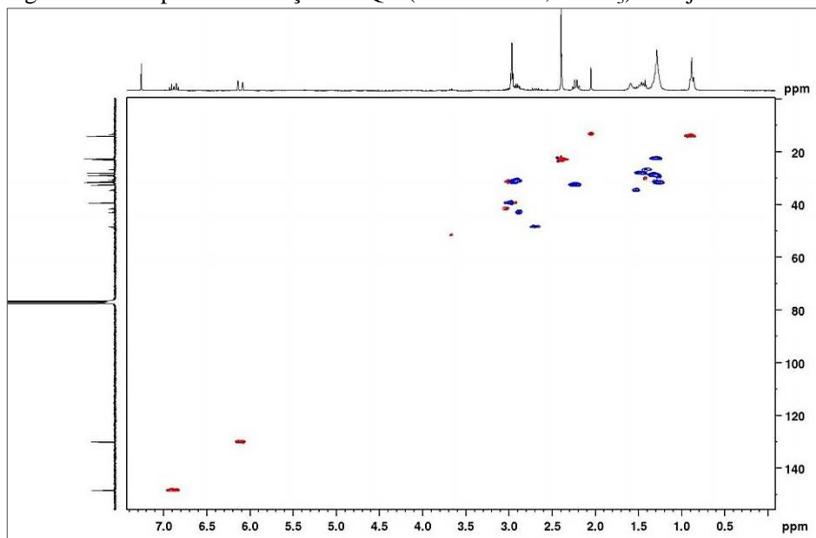
Figura 123. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj26.Figura 124. Espectro de RMN DEPT 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj26.

Figura 125. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj26.

\* Sinais em azul correspondem a  $\text{CH}_2$ , sinais em vermelho correspondem a  $\text{CH}$  ou  $\text{CH}_3$ .

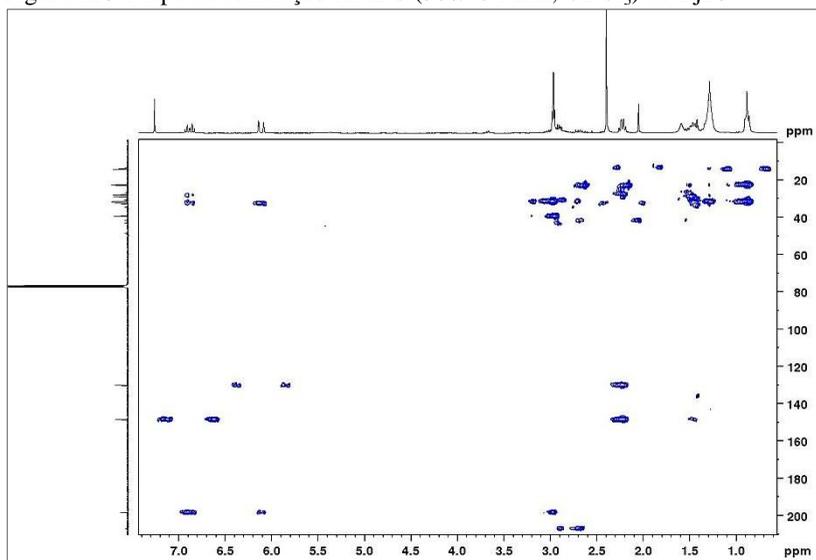
Figura 126. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj26.

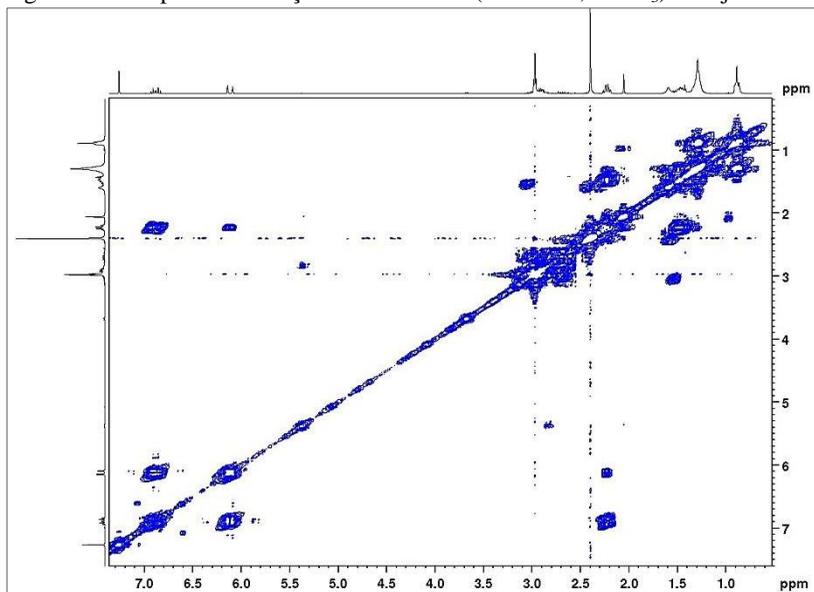
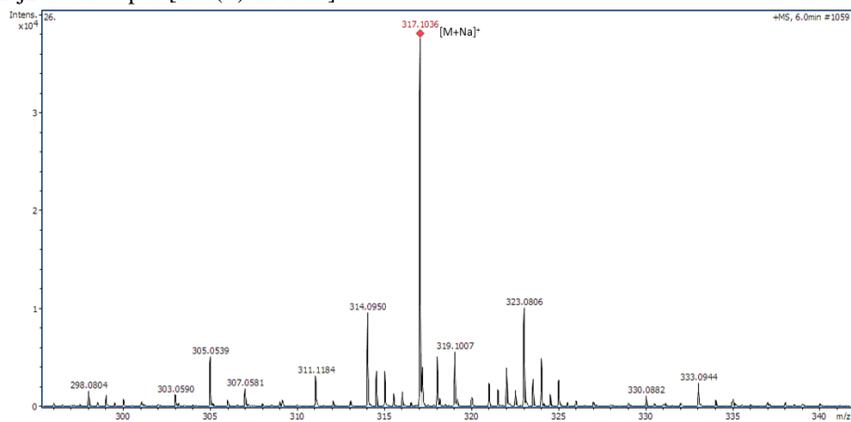
Figura 127. Mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj26.

Figura 128. Espectro de massas de alta resolução (modo varredura) do composto Dj26 obtido por [ESI(+)-EMAR].



#### 4.2.1.2 Compostos derivados de tocoferol

##### 4.2.1.2.1 Substância Dj15

Dj15 foi obtida como um óleo de coloração levemente amarelada da fração J1C11-53-69, com rendimento total de 7,3 mg, conforme esquema apresentado na Figura 17.

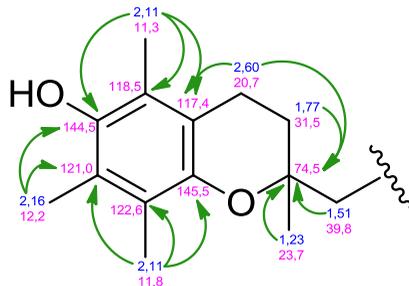
Apresenta-se na CCD em n-Hex:EtOAc (98:2, v/v) como uma mancha com Rf 0,35, com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire coloração roxa.

Por meio da comparação entre o espectro de  $^{13}\text{C}$  (Figura 133 e Tabela 17) e o espectro de DEPT 135 (Figura 134), foi possível constatar a presença de sete carbonos quaternários com deslocamentos entre  $\delta_{\text{C}}$  74,5 e  $\delta_{\text{C}}$  145,5. A análise dos dados permitiu concluir que destes sinais, seis correspondem a carbonos aromáticos:  $\delta_{\text{C}}$  117,4 (C-10),  $\delta_{\text{C}}$  118,5 (C-5),  $\delta_{\text{C}}$  121,0 (C-7),  $\delta_{\text{C}}$  122,6 (C-8),  $\delta_{\text{C}}$  144,5 (C-6) e  $\delta_{\text{C}}$  145,5 (C-9). Além disso, o deslocamento dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  144,5 (C-6) e  $\delta_{\text{C}}$  145,5 (C-9) são indicativos de que os mesmos estão diretamente ligados a átomo eletronegativo. Segundo o mapa de correlação HMBC (Figura 136), estes seis carbonos somente possuem correlação com um metileno em  $\delta_{\text{H}}$  2,60 (2H, t,  $J = 6,8$  Hz, H-4) e outros três grupos metila desblindados em  $\delta_{\text{H}}$  2,11 (6H, s, 5-CH<sub>3</sub> e 8-CH<sub>3</sub>) e  $\delta_{\text{H}}$  2,16 (3H, s, 7-CH<sub>3</sub>), indicando que os mesmos estão ligados diretamente a carbonos do anel aromático.

O sinal do carbono quaternário em  $\delta_{\text{C}}$  74,5 (C-2) é característico de carbono sp<sup>3</sup> oxigenado. O mapa de correlação HMBC apontou interações de longa distância com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,60 (H-4) mencionado anteriormente, bem como com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,77 (2H, m, H-3),  $\delta_{\text{H}}$  1,51 (2H, m, C-1') e  $\delta_{\text{H}}$  1,23 (3H, s, 2-CH<sub>3</sub>), indicando que os mesmos estavam conectados. Além disso, foi observada correlação dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  2,60 (H-4) com o carbono quaternário em  $\delta_{\text{C}}$  117,4 (C-10). Estes hidrogênios também apresentavam acoplamento vicinal ( $J = 6,8$  Hz) com os hidrogênios em 1,77 ppm (H-3).

Os dados descritos acima são bastante característicos de núcleo benzopirânico (um anel benzeno fundido a um anel pirano com diversos substituintes), presente em um número significativo de moléculas naturais, tais como: chalconas, cumarinas, flavonas, tocoferóis, entre outras (TANG et al., 2010). Com base nisso, foi possível determinar a estrutura parcial apontada na Figura 129.

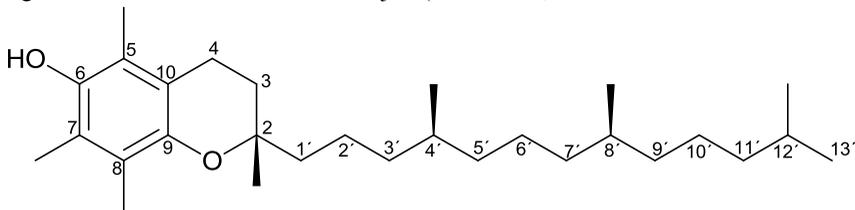
Figura 129. Estrutura parcial da substância Dj15 com as correlações verificadas no mapa de HMBC.



Os sinais de hidrogênios blindados no espectro RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 132) eram indicativos da presença de grupamentos metílenos formando uma cadeia alquílica, com a presença de quatro grupos  $\text{CH}_3$  com deslocamentos entre  $\delta_{\text{H}}$  0,84 e  $\delta_{\text{H}}$  0,85.

A comparação com os dados da literatura permitiu identificar a substância como sendo o  $\alpha$ -tocoferol (Figura 130), uma substância da família da vitamina E. Dessa forma, os demais deslocamentos químicos correspondentes à cadeia alquílica foram atribuídos de acordo com os dados espectroscópicos obtidos para o composto Dj15 e os dados da literatura para o  $\alpha$ -tocoferol (Tabela 17).

Figura 130. Estrutura da substância Dj15 ( $\alpha$ -tocoferol).



Este constitui o primeiro relato do isolamento desta substância de algas do gênero *Dictyopterus*, havendo na literatura apenas um trabalho relatando a identificação e quantificação de  $\alpha$ -tocoferol por meio de CLAE na espécie *D. delicatula* (SOUSA et al., 2008). Nesse caso, a quantificação indicou a presença de  $26,562 \pm 3,627 \mu\text{g/g}$  de  $\alpha$ -tocoferol por peso fresco de alga. Ainda nesse mesmo trabalho, foi demonstrada a presença de  $\alpha$ -tocoferol em várias outras espécies de algas pardas, como *Dictyota dichotoma*, *Lobophora variegata*, *Padina gymnospora* e *Sargassum*

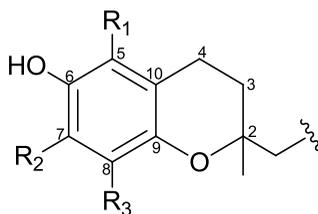
*cymosum*, além de algas verdes (como dos gêneros *Caulerpa*, *Cladophora*, *Codium* e *Ulva*) e vermelhas (como dos gêneros *Acanthophora*, *Gracilaria*, *Hypnea* e *Osmundea*).

Há muitos trabalhos na literatura relatando a identificação, isolamento ou quantificação de  $\alpha$ -tocoferol (bem como tocoferóis em geral) em algas marinhas, principalmente relacionando a presença deste composto com as propriedades nutricionais de algas comestíveis (ORTIZ et al., 2006). Além das algas, os tocoferóis já foram descritos em inúmeros organismos, como bactérias, fungos, plantas e animais (MUNNÉ-BOSCH, 2007), sendo, portanto, amplamente encontrado em organismos vivos em geral.

A classe dos tocoferóis apresenta oito moléculas caracterizadas pela presença de um anel cromanol e uma cadeia alifática lateral. Dentro desta classe, tem-se a divisão em dois grupos: tocoferóis (cadeia lateral saturada) e tocotrienóis (cadeia lateral insaturada), cada um com quatro isoformas:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , e  $\delta$ , nomeadas de acordo com as substituições por  $\text{CH}_3$  nas posições 5, 7 e 8 do anel cromanol (Figura 131). Os tocoferóis possuem três centros quirais, e a isoforma naturalmente encontrada apresenta configuração  $2R,4'R,8'R$  (ZINGG; AZZI, 2004; TUCKER; TOWNSEND, 2005).

De acordo com a biossíntese, o anel cromanol é derivado do ácido homogentísico, biossintetizado a partir do metabolismo dos aminoácidos aromáticos (via do ácido chiquímico), enquanto a cadeia lateral é derivada do difosfato de geranylgeranila, biossintetizada pela via do metileritriol-fosfato (SAINI; KEUM, 2016).

Figura 131. Estrutura da porção do núcleo benzopirânico dos diferentes tipos de tocoferóis e tocotrienóis.



$\alpha$ :  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$

$\beta$ :  $R_1 = R_3 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$

$\delta$ :  $R_1 = R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{CH}_3$

$\gamma$ :  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_3 = \text{CH}_3$

Os tocoferóis são importantes componentes das membranas biológicas, onde atuam como antioxidantes e contribuem para a estabilização das mesmas (WITKOWSKI; WALEJKO; WAWER, 1998). Neste contexto, a isoforma  $\alpha$ -tocoferol é a forma natural mais potente como captadora de radicais livres de oxigênio e nitrogênio, sendo apenas superada por compostos sintéticos (WIJTMANS et al., 2003).

A revisão realizada por Tucker e Townsend (2005) reúne diversas atividades biológicas já relatadas para o  $\alpha$ -tocoferol, destacando o seu papel como antioxidante (exercendo, por exemplo, papel na prevenção da peroxidação lipídica e aterosclerose), mas também como pro-oxidante, participando da sinalização celular e funções regulatórias no organismo. Além disso, inúmeros estudos clínicos e pré-clínicos apontaram os benefícios desta substância na prevenção e tratamento de doenças do coração, câncer e doença de Alzheimer.

Tabela 17. Dados espectrais de RMN da substância Dj15 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para  $\alpha$ -tocoferol.

Posição	DJ15 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )			Composto 3, Ayres et al., 2009 (500/125 MHz, CDCl <sub>3</sub> )		Baker e Myers, 1991 (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	
	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$	HMBC	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$
2	-	74,5	-	-	74,5	-	74,5
3	1,77 (2H, m)	31,5	20,7; 23,7; 39,8; 74,5; 117,4	-	31,6	~ 1,8	31,5
4	2,60 (2H, t, 6,8)	20,7	31,5; 74,5; 117,4; 145,5	6,62 (2H, t, 6,7)	20,8	2,60	20,8
5	-	118,5	-	-	118,5	-	118,5
6	-	144,5	-	-	144,5	-	144,5
7	-	121,0	-	-	121,0	-	121,0
8	-	122,6	-	-	122,6	-	122,6
9	-	145,5	-	-	145,5	-	145,6
10	-	117,4	-	-	117,4	-	117,3
1'	1,51 (2H, m)	39,8	-	-	39,8	~1,5	39,8
2'	~1,3	21,0	-	-	21,0	~1,3	21,1
3'	~1,3	37,4	-	-	37,5	~1,4	37,6
4'	~1,4	32,8	-	-	32,8	~1,4	32,7
5'	~1,3	37,2	-	-	37,5	~1,4	37,4
6'	~1,3	24,4	-	-	24,4	~1,3	24,5
7'	~1,1	37,4	-	-	37,5	~1,1	37,3
8'	~1,4	32,7	-	-	32,8	~1,4	32,8
9'	~1,3	37,4	-	-	37,5	~1,4	37,5
10'	~1,3	24,8	-	-	24,8	~1,3	24,8
11'	~1,2	39,4	-	-	39,4	~1,2	39,4
12'	~1,5	27,9	-	-	28,0	~1,5	28,0
13'	0,85 (3H, d, 6,6)	22,6	-	-	22,7	0,85	22,6
2-CH <sub>3</sub>	1,23 (3H, s)	23,7	31,5; 39,8; 31,5	-	23,8	1,22	23,8
5-CH <sub>3</sub>	2,11 (3H, s)	11,3*	117,4; 118,8; 144,5	2,13 (3H, s)	11,3	2,11	11,3
7-CH <sub>3</sub>	2,16 (3H, s)	12,2	121,0; 144,5	2,17 (3H, s)	12,2	2,15	12,2
8-CH <sub>3</sub>	2,11 (3H, s)	11,8*	121,0; 122,6; 145,5	2,13 (3H, s)	11,8	2,11	11,8
4'-CH <sub>3</sub>	0,84 (3H, d, 6,6)	19,7	-	-	19,7	0,84	~19,7
8'-CH <sub>3</sub>	0,84 (3H, d, 6,6)	19,6	-	-	19,7	0,83	~19,7
12'-CH <sub>3</sub>	0,88 (3H, d, 6,6)	22,7	-	-	22,7	0,88	22,7
OH	4,19 (s, 1H)	-	-	-	-	-	-

\* os valores podem estar invertidos.

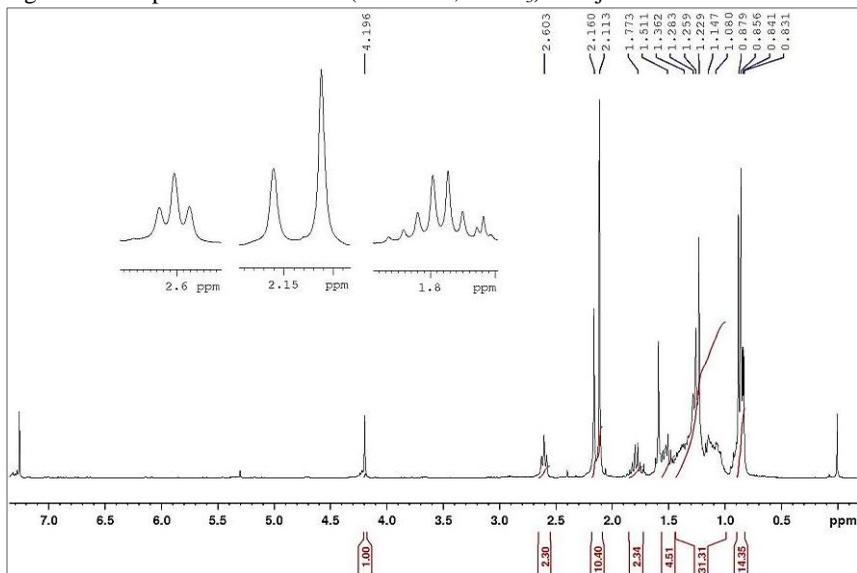
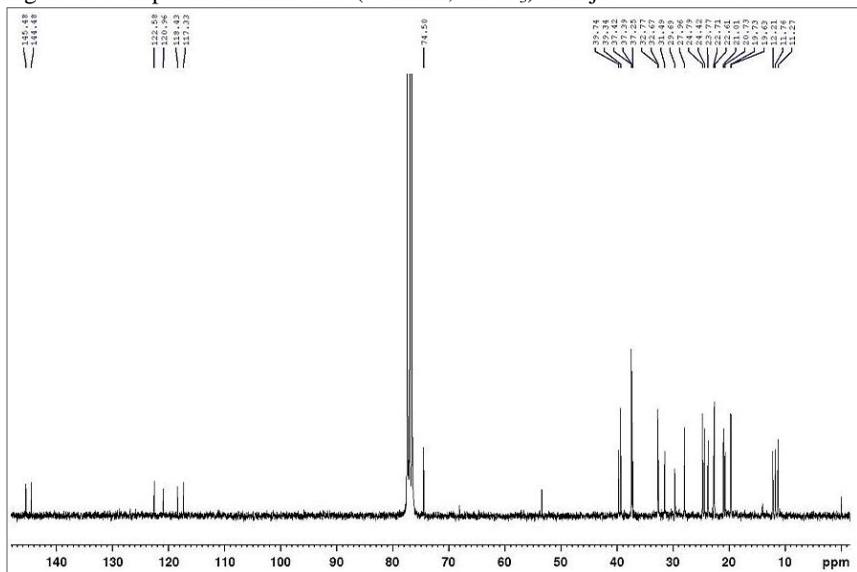
Figura 132. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj15.Figura 133. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj15.

Figura 134. Espectro de DEPT 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj15.

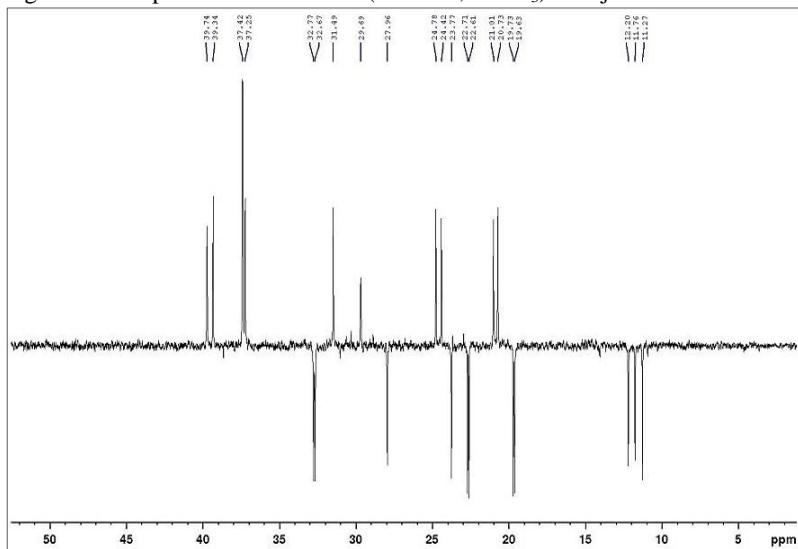
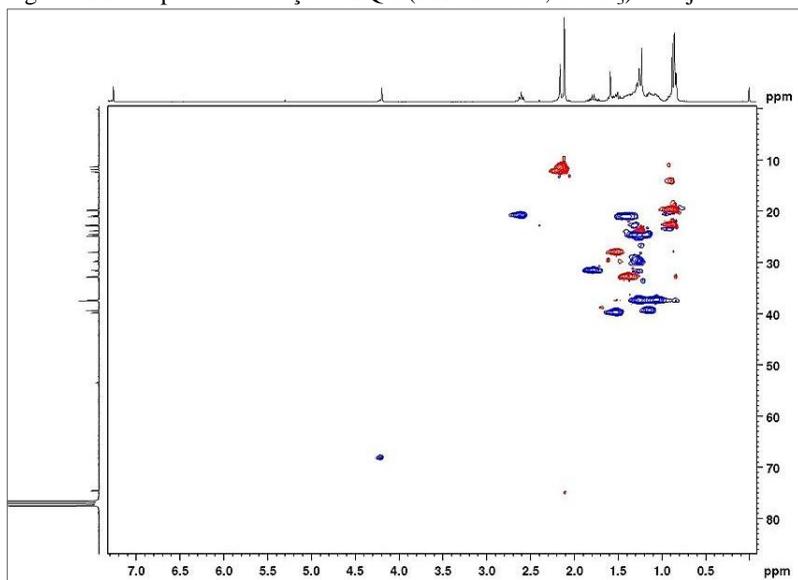
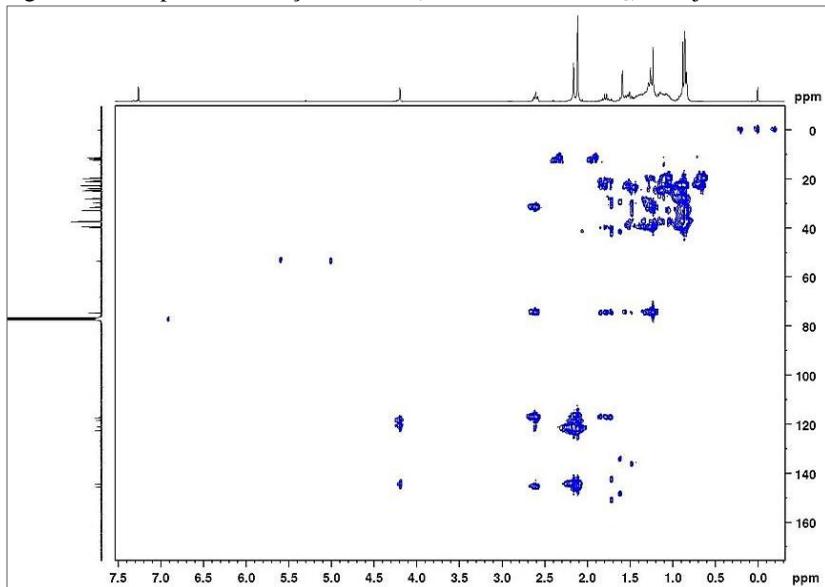


Figura 135. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj15.



\* Sinais em azul correspondem a  $\text{CH}_2$ , sinais em vermelho correspondem a  $\text{CH}$  ou  $\text{CH}_3$ .

Figura 136. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Dj1.

#### 4.2.1.2.2 Substância Dj20

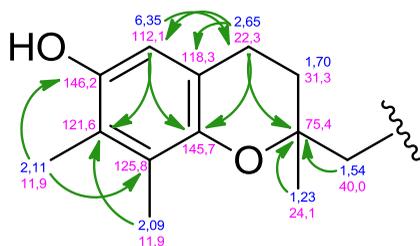
Dj20 foi obtida como um óleo de coloração amarelada da fração J1C19-16-24, com rendimento total de 4,9 mg, e na forma impura na fração J1ES18-9-10, conforme esquema apresentado na Figura 19.

Apresenta-se na CCD em n-Hex:AcOEt (9:1, v/v) como uma mancha com R<sub>f</sub> 0,35, com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor roxa clara.

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 139 e Tabela 18) indicou que a amostra não se encontra completamente pura. No entanto, foi possível observar um padrão de sinais bastante semelhante ao do composto Dj15 anteriormente descrito. A principal diferença é a presença de um hidrogênio aromático em δ<sub>H</sub> 6,35 (1H, s, H-5). Dessa forma, a comparação com os dados de outros compostos pertencentes à família da vitamina E sugeriu tratar-se de β- ou γ-tocoferol, os quais diferem entre si apenas com relação ao padrão de substituição do anel aromático. No caso do β-tocoferol, este apresenta a posição C-7 sem substituinte, enquanto o γ-tocoferol apresenta a posição C-5 sem substituinte (Figura 131).

A confirmação da identidade da presente substância foi realizada por meio da comparação dos deslocamentos observados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  (Figura 140) com aqueles reportados para as duas substâncias (Tabela 18). Pode-se observar que os dados obtidos para a substância Dj20 estão de acordo com aqueles apresentados para o  $\gamma$ -tocoferol, destacando-se as posições 4, 5, 7- $\text{CH}_3$  e 8- $\text{CH}_3$ . Além disso, as correlações observadas no mapa de HMBC (Figura 142) corroboram a estrutura proposta, notadamente as correlações observadas entre os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,35 (H-5) e o carbono ressonando em  $\delta_{\text{C}}$  22,3 (C-4), além da correlação entre os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  2,11 (3H, s, 7- $\text{CH}_3$ ) e o carbono ressonando em  $\delta_{\text{C}}$  125,8 (C-8), e dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  2,09 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -8) com o carbono ressonando em  $\delta_{\text{C}}$  121,6 (C-7). A estrutura parcial contendo estas correlações está apresentada na Figura 137.

Figura 137. Estrutura parcial da substância Dj20 com as correlações verificadas no mapa de HMBC.



Dessa forma, a substância Dj20 foi identificada como  $\gamma$ -tocoferol (Figura 138). No gênero *Dictyopteris*, este composto somente foi isolado da espécie *D. polypodioides* coletada na Baía Gerolimenas, Grécia (DIMOU et al., 2016). No entanto,  $\gamma$ -tocoferol é amplamente encontrado em algas marinhas, principalmente algas pardas, muitas das quais apresentam propriedades nutricionais, como espécies de *Laminaria*, *Fucus*, *Ascophyllum* e *Ulva* (HOLDT; KRAAN, 2011; SKROVANKOV; 2011). Além disso, este composto está presente também em plantas, notadamente encontrado em óleos vegetais, como o óleo de soja, além do milho, amendoim e canola, constituindo uma das principais fontes de vitamina E para o ser humano (SAINI; KEUM; 2016; DIETRICH et al., 2006).

Dentre os isômeros da vitamina E,  $\gamma$ -tocoferol é considerado o mais eficiente em remover radicais livres de nitrogênio, além de apresentar potente atividade anti-inflamatória e de inibição da carcinogênese (DIETRICH et al., 2006; GRILO et al., 2014).

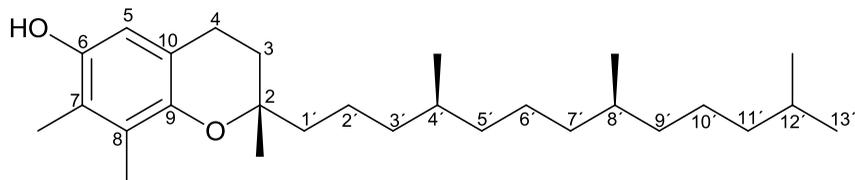
Figura 138. Estrutura da substância Dj20 ( $\gamma$ -tocoferol).

Tabela 18. Dados espectrais de RMN da substância Dj20 obtidos no presente trabalho, em comparação com a literatura para as substâncias  $\beta$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocoferol.

Dj20 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )				Baker e Myers, 1991 (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> )				Soares et al., 2014 (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	
$\gamma$ -tocoferol				$\beta$ -tocoferol		$\gamma$ -tocoferol		$\gamma$ -tocoferol	
Posição	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$	HMBC	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$
2	-	75,4	-	-	<b>74,5</b>	-	75,5	-	75,5
3	1,74 (2H, m)	31,3	-	~1,8	31,4	~1,8	31,4	1,66 (m)	31,5
4	2,65 (2H, t, 6,3)	22,3	31,3; 75,4; 112,1; 118,3; 145,7	2,60	<b>20,8</b>	2,67	22,3	2,65 (t, 7,3)	22,3
5	6,35 (1H, s)	112,1	22,3; 121,6; 125,8; 145,7	-	<b>119,2</b>	6,37	112,1	6,35 (s)	112,1
6	-	146,2	-	-	145,7	-	146,2	-	146,2
7	-	121,6	-	<b>6,46</b>	<b>115,3</b>	-	121,6	-	121,6
8	-	125,8	-	-	<b>124,0</b>	-	125,8	-	125,8
9	-	145,7	-	-	146,0	-	145,8	-	145,8
10	-	118,3	-	-	<b>120,3</b>	-	118,3	-	118,3
1'	1,54 (2H, m)	40,0	-	~1,5	39,7	~1,5	40,1	-	40,0
2'	~1,3	21,0	-	~1,3	21,0	~1,3	21,0	-	21,0
3'	~1,4	37,4	-	~1,4	37,5	~1,4	37,5	-	37,5
4'	~1,4	32,7	-	~1,4	32,7	~1,4	32,7	-	32,7
5'	~1,4	37,4	-	~1,4	37,4	~1,4	37,3	-	37,3
6'	~1,3	24,4	-	~1,3	24,5	~1,3	24,5	-	24,5
7'	~1,1	37,3	-	~1,1	37,3	~1,1	37,3	-	37,3
8'	~1,4	32,8	-	~1,4	32,8	~1,4	32,8	-	32,8
9'	~1,4	37,4	-	~1,4	37,5	~1,4	37,4	-	37,4
10'	~1,3	24,8	-	~1,3	24,8	~1,3	24,8	-	24,8
11'	~1,2	39,4	-	~1,2	39,4	~1,2	39,4	1,23-1,28 (m)	39,4
12'	~1,5	28,0	-	~1,5	28,0	~1,5	28,0	-	28,0
13'	0,85 (3H, d, 6,6)	22,6	-	0,85	22,6	0,85	22,6	0,84 (d, 6,7)	22,6
2-CH <sub>3</sub>	1,23 (3H, s)	24,1	40,0; 75,4	1,22	<b>23,8</b>	1,24	24,1	1,22 (s)	24,1
5-CH <sub>3</sub>	-	-	-	2,08	<b>11,0</b>	-	-	-	-
7-CH <sub>3</sub>	2,11 (3H, s)	11,9	125,8; 146,2	-	-	2,13	11,9	2,11 (s)	11,9
8-CH <sub>3</sub>	2,09 (3H, s)	11,9	121,6	2,09	<b>15,8</b>	2,11	11,9	2,09 (s)	11,9
4'-CH <sub>3</sub>	0,82 (3H, d, 6,6)	19,6	-	0,84	19,7	0,84	19,7	0,84 (d, 6,7)	19,6
8'-CH <sub>3</sub>	0,82 (3H, d, 6,6)	19,7	-	0,83	19,8	0,83	19,8	0,82 (d, 6,7)	19,8
12'-CH <sub>3</sub>	0,85 (3H, d, 6,6)	22,7	-	0,88	22,7	0,88	22,7	0,84 (d,6,7)	22,7
OH	-	-	-	4,35	-	4,25	-	4,21 (s)	-

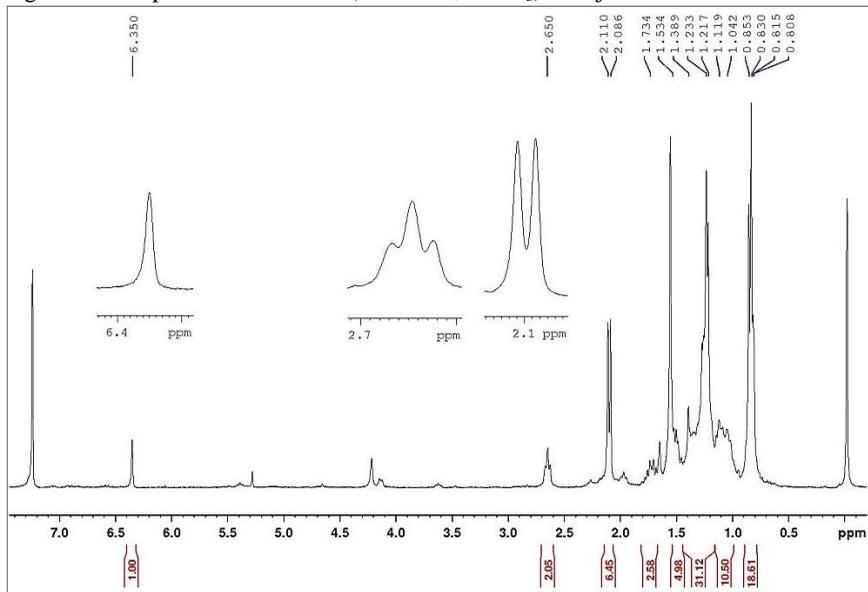
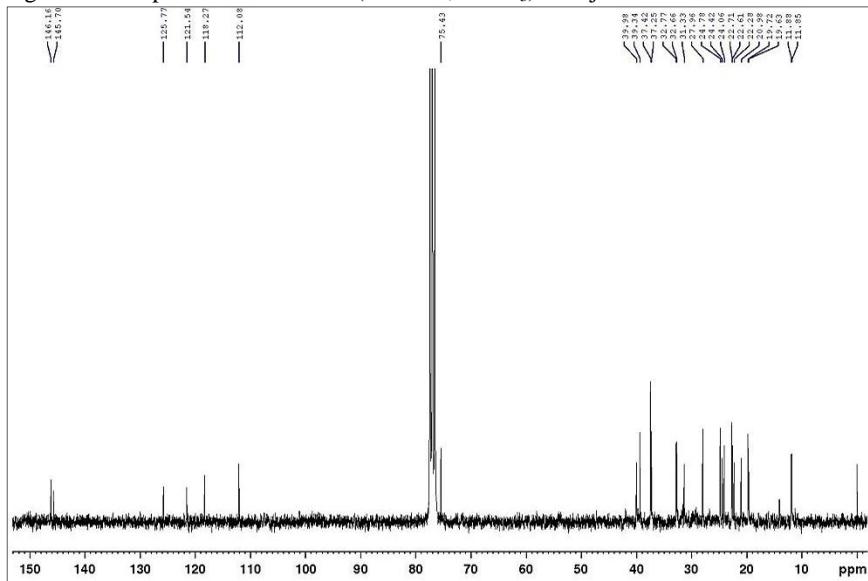
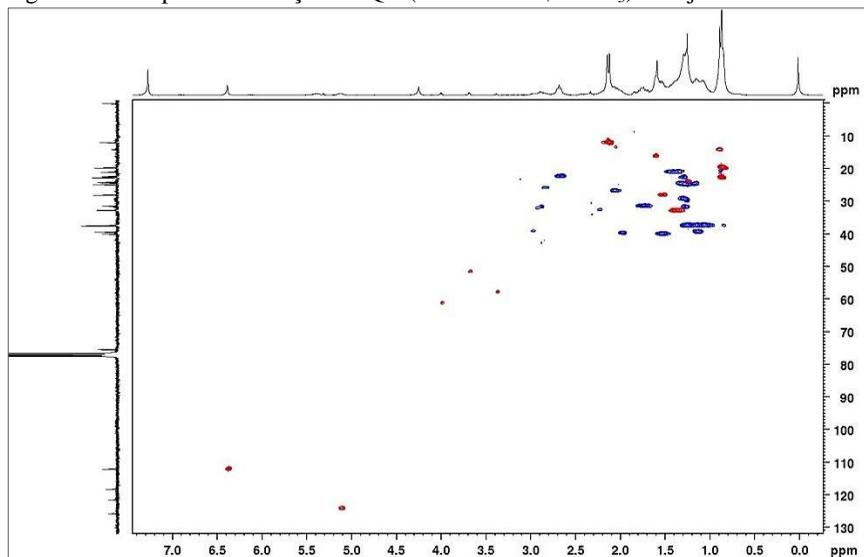
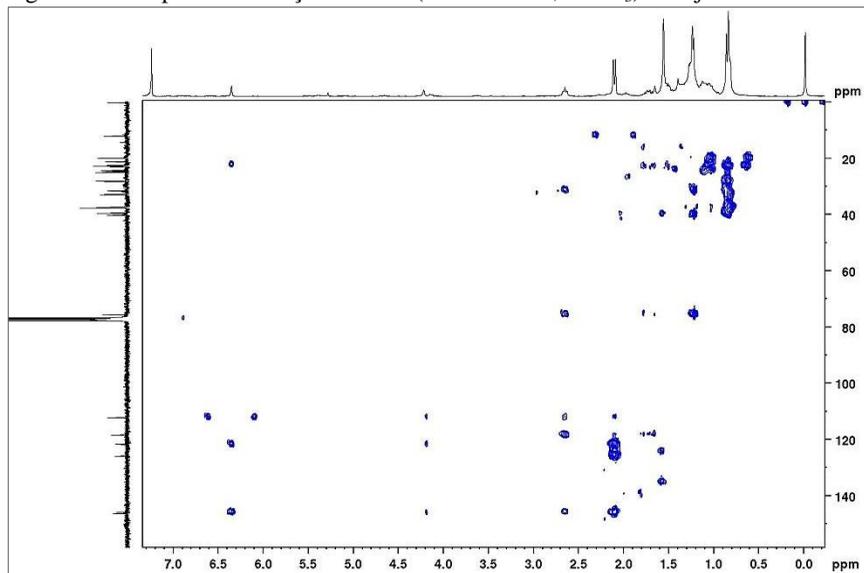
Figura 139. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj20.Figura 140. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj20.

Figura 141. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj20.

\* Sinais em azul correspondem a  $\text{CH}_2$ , sinais em vermelho correspondem a CH ou  $\text{CH}_3$ .

Figura 142. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj20.

#### 4.2.1.2.3 Substância Dj25

Dj25 foi obtido como um óleo de coloração amarelada da fração J1C22-24-28, com rendimento total de 2,2 mg, conforme esquema apresentado na Figura 19.

Apresenta-se na CCD em n-Hex:AcOEt (85:15, v/v) como uma mancha com Rf 0,3, com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor roxa.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 145 e Tabela 19) e de  $^{13}\text{C}$  (Figura 146) apresentaram-se bastante semelhantes aos espectros dos tocoferóis, especialmente o  $\alpha$ -tocoferol (Dj15). No entanto, algumas particularidades foram observadas, como a presença de um multipletto em  $\delta_{\text{H}}$  2,55 (2H, m), ao invés de um tripleto como observado em Dj15 ( $\delta_{\text{H}}$  2,60), assim como as metilas levemente mais blindadas ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  2,01 (6H, s) e  $\delta_{\text{H}}$  2,04 (3H, s.). Verificou-se também a ausência dos demais sinais correspondentes ao anel pirano no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  1,77) e de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta_{\text{C}}$  31,5 e  $\delta_{\text{C}}$  74,5), sugerindo a inexistência deste segundo anel.

Por meio do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e das correlações observadas no mapa de HMBC (Figura 148) foi possível estabelecer a presença de 29 carbonos, sendo sete destes quaternários:  $\delta_{\text{C}}$  187,8,  $\delta_{\text{C}}$  187,6,  $\delta_{\text{C}}$  144,4,  $\delta_{\text{C}}$  140,6,  $\delta_{\text{C}}$  140,4,  $\delta_{\text{C}}$  140,2 e  $\delta_{\text{C}}$  72,6. A ressonância na região de  $\delta_{\text{C}}$  187,8 e  $\delta_{\text{C}}$  187,6 é indicativa da existência de carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007) e, juntamente com os demais sinais na região de  $\delta_{\text{C}}$  140 a  $\delta_{\text{C}}$  145, sugere tratar-se de uma benzoquinona totalmente substituída ligada a uma cadeia terpênica. A busca na literatura sobre derivados de tocoferóis apontou a forma oxidada do  $\alpha$ -tocoferol,  $\alpha$ -tocoferol-quinona (também denominado de  $\alpha$ -tocoferil-quinona).

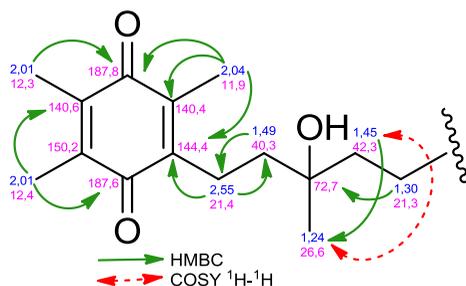
Dessa forma, a atribuição dos sinais foi feita com base nas correlações observadas nos mapas de HSQC (Figura 147), HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Figura 149). As duas metilas ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  2,01 (6H, s, 2- $\text{CH}_3$  e 3- $\text{CH}_3$ ) apresentaram correlação direta com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  12,3 ( $\text{CH}_3$ -3) e  $\delta_{\text{C}}$  12,4 ( $\text{CH}_3$ -2) no mapa de HSQC, e correlações a longa distância com os carbonos quaternários em  $\delta_{\text{C}}$  140,6 (C-3),  $\delta_{\text{C}}$  187,6 (C-1) e  $\delta_{\text{C}}$  187,8 (C-4) no mapa de HMBC. O carbono em C-4 também apresentou correlação a longa distância com a metila em  $\delta_{\text{H}}$  2,04 (3H, s, 5- $\text{CH}_3$ ), indicando que ambas as metilas estão em posição orto em relação a esta carbonila. Adicionalmente, a metila em  $\delta_{\text{H}}$  2,04 (5- $\text{CH}_3$ ) apresentou correlação direta

com o carbono em  $\delta_C$  11,9 (C-5) e correlações a longa distância com os carbonos em  $\delta_C$  140,4 (C-5) e  $\delta_C$  144,4 (C-6).

Diretamente ligado ao anel benzoquinônico encontra-se o metileno mais desblindado ressonando em  $\delta_H$  2,55 (2H, m, H-1'), o qual apresenta correlação a longa distância com o carbono em C-6 do anel, bem como com o carbono ressonando em  $\delta_C$  40,3 (C-2'), vicinal ao carbono quaternário hidroxilado em  $\delta_C$  72,7 (C-3').

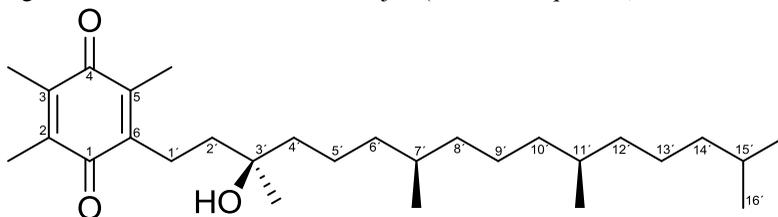
A metila ressonando em  $\delta_H$  1,24 (3H, s, CH<sub>3</sub>-3) apresenta-se mais desblindada pela proximidade ao grupamento hidroxila e apresentou correlações com os metilenos nas posições C-4' e C-5'. A Figura 143 apresenta a estrutura parcial da substância Dj25 com as correlações observadas no mapa de HMBC e COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H.

Figura 143. Estrutura parcial da substância Dj25 com correlações observadas no mapa de HMBC e COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H.



As atribuições dos sinais para o restante da cadeia fitólica se deu em conformidade com o observado na literatura para o  $\alpha$ -tocoferol-quinona (Figura 144). Este constitui o primeiro relato do isolamento desta substância para o gênero *Dictyopteris*.

Figura 144. Estrutura da substância Dj25 ( $\alpha$ -tocoferil-quinona).



A  $\alpha$ -tocoferil-quinona ocorre amplamente em organismos fotossintetizantes, também podendo ser encontrada em tecidos animais e bactérias. Evidências indicam a participação desta substância na cadeia de transporte de elétrons, e a sua forma reduzida ( $\alpha$ -tocoferil-hidroquinona) atua como antioxidante. Nas plantas, esta quinona é encontrada principalmente nos cloroplastos, onde é sintetizada juntamente com outras quinonas preniladas. Outra possível fonte de  $\alpha$ -tocoferil-quinona é a partir da oxidação do  $\alpha$ -tocoferol (KRUK e STRZALKA, 1995; NOWICKA e KRUK, 2010).

Diversas atividades biológicas já foram avaliadas, muitas delas relacionadas ao seu potencial antioxidante, apresentando efeitos promissores em doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer (DA) e Ataxia de Friedreich. Yang e colaboradores (2010 e 2016) demonstraram o potencial desta substância *in vitro* e *in vivo* em diversos ensaios relacionados a patogenia da Doença de Alzheimer, incluindo inibição da agregação da proteína beta-amiloide e sua neurocitotoxicidade, diminuição da formação de espécies reativas de oxigênio, NO e citocinas inflamatórias em células microgliais e também em ratos transgênicos, nos quais houve redução da perda de memória. Shrader et al. (2012) demonstraram que esta substância protege os fibroblastos de pacientes diagnosticados com Ataxia de Friedreich contra o estresse oxidativo de maneira dose-dependente. A substância também não apresentou efeito mutagênico no teste de Ames, nem no teste de micronúcleo.

Além disso,  $\alpha$ -tocoferol-quinona apresentou efeitos benéficos em estudos clínicos de doenças isquêmicas do coração e infarto, relacionados ao seu potencial anticoagulante e antiagregante. A atividade anticoagulante está relacionada à inibição da enzima carboxilase dependente da vitamina K, por meio, por exemplo, da ligação aos grupos tios do sítio ativo da enzima (DOWN e ZHENG, 1995). Além disso, estudos têm demonstrado maior potencial de inibição da agregação plaquetária quando comparado ao  $\alpha$ -tocoferol (COX et al., 1980).

Tabela 19. Dados espectrais de RMN da substância Dj25 e em comparação com a literatura para  $\alpha$ -tocoferil-quinona.

Posição	Dj25 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> )			Pascual Tereza et al., 1987 (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> )		Cho et al., 2009 (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> )		
	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$	HMBC	COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (mult., J Hz)	$\delta_C$
1	-	187,6	-	-	-	187,24	-	187,07
2	-	140,2	-	-	-	140,23	-	140,29
3	-	140,6	-	-	-	140,49	-	140,05
4	-	187,8	-	-	-	187,68	-	187,51
5	-	140,4	-	-	-	140,58	-	140,40
6	-	144,4	-	-	-	144,55	-	144,27
1'	2,55 (2H, m)	21,4	40,3; 144,4	1,49	2,55 (2H, m)	21,46	2,51 (2H, m)	21,35
2'	1,49 (2H, m)	40,3	21,4	2,55	-	40,35	-	40,23
3'	-	72,7	-	-	-	72,69	-	72,65
4'	1,45 (2H, m)	42,3	26,6	-	-	42,39	-	42,27
5'	1,30 (2H, m)	21,3	72,7	-	-	21,39	-	21,45
6'	~1,2	37,6	-	-	-	37,69	-	37,60
7'	~1,4	32,8	-	-	-	-	-	32,80
8'	~1,2	37,4	-	-	-	-	-	37,44
9'	~1,2	24,5	-	-	-	24,54	-	24,54
10'	~1,2	37,4	-	-	-	37,50	-	37,44
11'	~1,4	32,8	-	-	-	32,84	-	32,83
12'	~1,2	37,3	-	-	-	37,35	-	37,29
13'	~1,2	24,8	-	-	-	24,83	-	24,84
14'	1,11 (2H, m)	39,4	-	-	-	39,44	-	39,37
15'	1,49 (1H, m)	28,0	-	-	-	28,01	-	28,01
16'	0,83 (3H, d, 6,7)	22,6	-	-	0,88 (3H, d, 6,35)	22,64	0,83 (3H, d, 6,8)	22,78
2-CH <sub>3</sub>	2,01 (3H, s)	12,4	140,6; 187,6	-	1,98 (3H, s)	12,35	1,98 (3H, s)	12,47
3-CH <sub>3</sub>	2,01 (3H, s)	12,3	187,8	-	1,98 (3H, s)	12,27	1,98 (3H, s)	12,39
5-CH <sub>3</sub>	2,04 (3H, s)	11,9	140,4; 144,4; 187,8	-	2,03 (3H, s)	11,95	2,00 (3H, s)	12,06
3'-CH <sub>3</sub>	1,24 (3H, s)	26,6	-	-	1,2 (3H, s)	26,64	1,20 (3H, s)	26,59
7'-CH <sub>3</sub>	0,83 (3H, d, 6,7)	19,7	-	-	0,88 (3H, d, 6,35)	19,74	0,83 (d, 6,8)	19,81
11'-CH <sub>3</sub>	0,83 (3H, d, 6,7)	19,8	-	-	0,88 (3H, d, 6,35)	19,79	0,83 (d, 6,8)	12,47
15'-CH <sub>3</sub>	0,84 (3H, d, 6,7)	22,7	-	-	0,86 (3H, d, 5,86)	22,73	0,81 (d, 6,8)	22,68

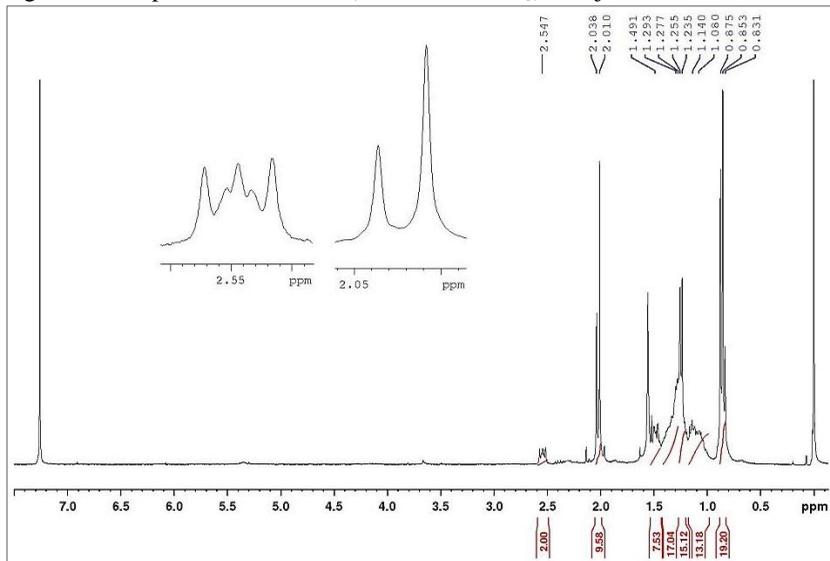
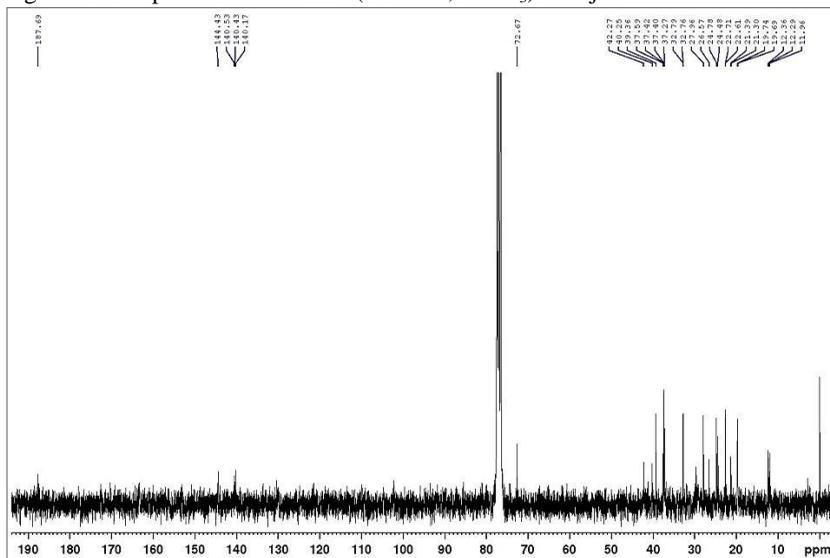
Figura 145. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj25.Figura 146. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj25.

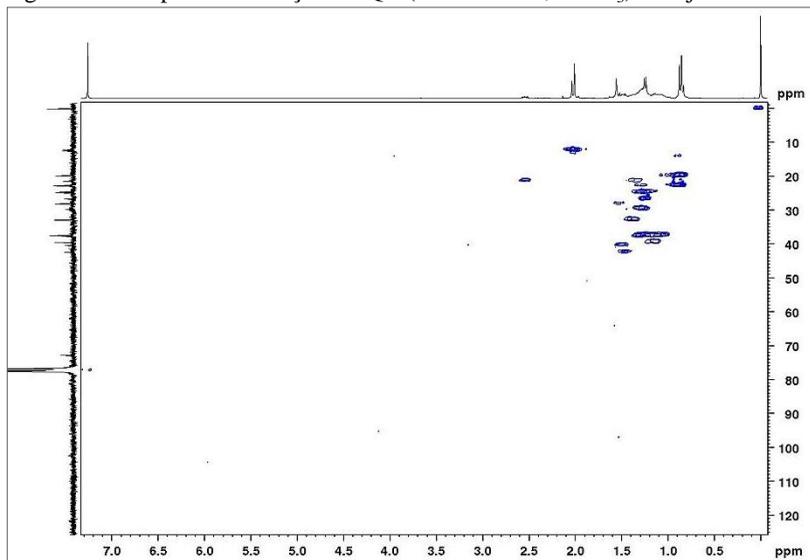
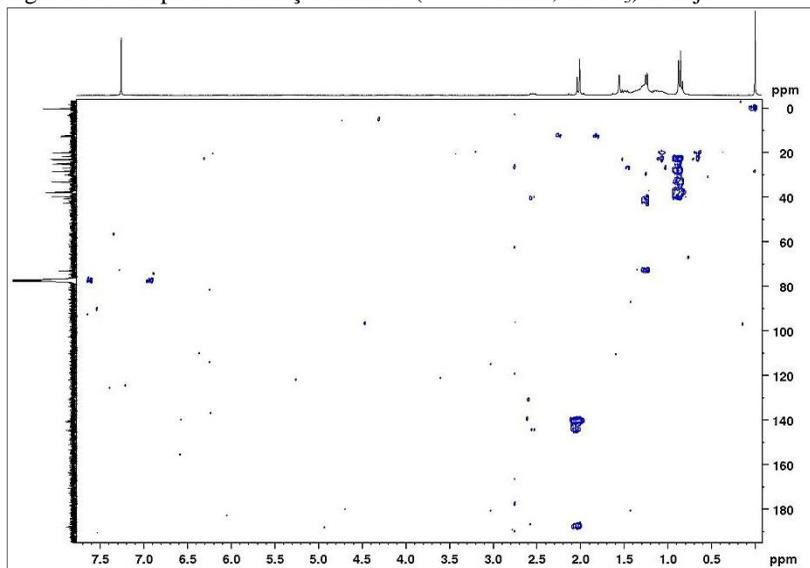
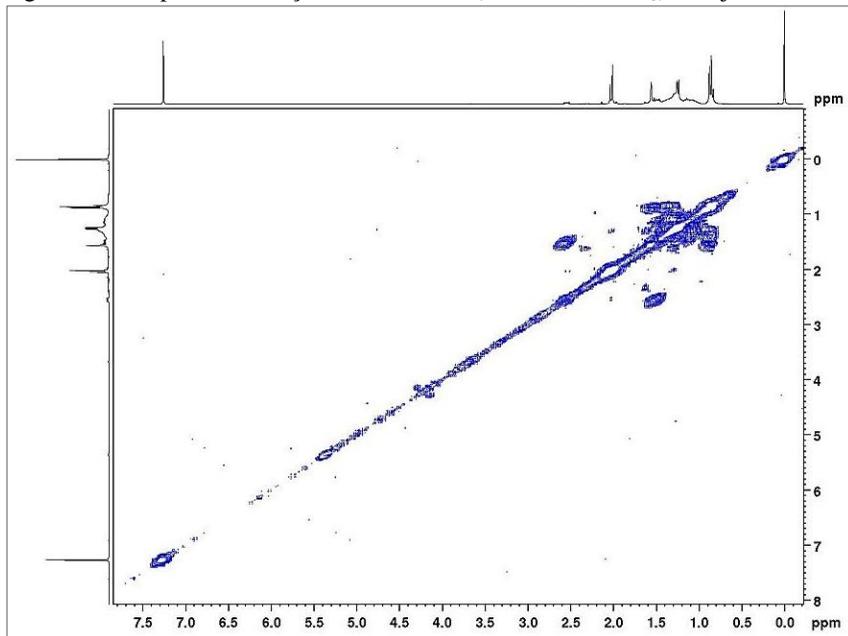
Figura 147. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj25.Figura 148. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj25.

Figura 149. Mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj25.

#### 4.2.1.3 Compostos terpênicos

##### 4.2.1.3.1 Substância Dj21

Dj21 foi obtida como substância minoritária na fração J1ES18-9-10, da qual foi possível identificar o composto  $\gamma$ -tocoferol reportado anteriormente. O rendimento total daquela fração foi de 8,1 mg, conforme esquema apresentado na Figura 19.

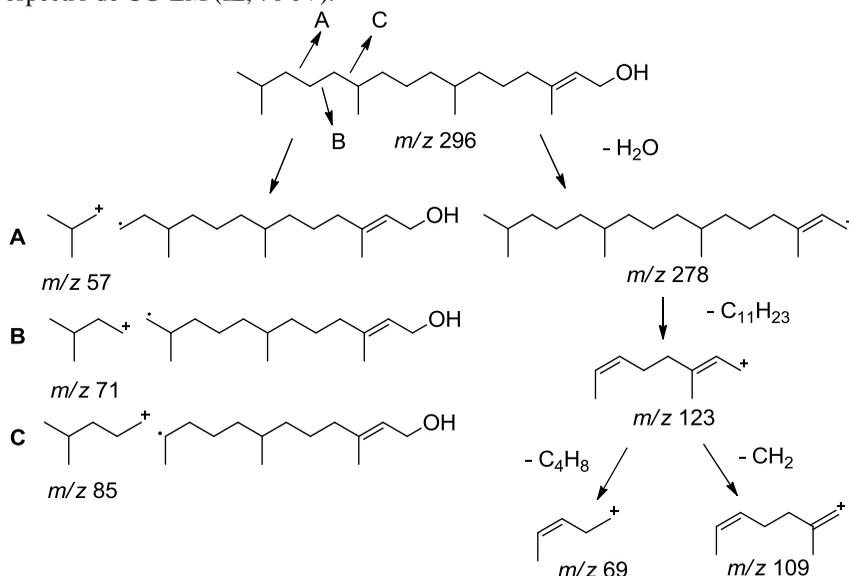
Apresenta-se na CCD em n-Hex:AcOEt (9:1, v/v) como uma mancha com Rf 0,4, que não extingue a fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor roxa.

Por meio da análise por CG-EM verificou-se a presença de dois picos principais eluindo em 20,96 min e 34,40 min (Figura 154). A busca na biblioteca da base de dados NIST sugeriu tratar-se de fitol e  $\gamma$ -tocoferol, respectivamente. O espectro de massas para o pico em 20,96 min (Figura 155) apresentou um íon de  $m/z$  296,0061 ( $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$ ), referente ao pico do íon molecular  $[\text{M}]^+$ . Observa-se que o pico correspondente ao íon molecular

apresenta baixa intensidade, o que é esperado por conta da desidratação sofrida pelos álcoois.

O perfil de fragmentação observado no espectro de massas apresentou alguns íons característicos:  $m/z$  278 (2,  $M^+ - H_2O$ ),  $m/z$  123 (38),  $m/z$  109 (11),  $m/z$  95 (26),  $m/z$  81 (49),  $m/z$  71 (100),  $m/z$  69 (35),  $m/z$  57 (47). Dessa forma, com base na literatura (BYJU et al., 2013; ALTOÉ, 2014), foi proposto o esquema de fragmentação apresentado na Figura 150.

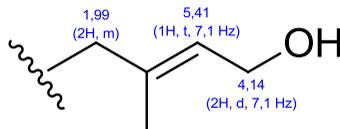
Figura 150. Esquema de fragmentação da substância Dj21 (fitol) com base no espectro de CG-EM (IE, 70 eV).



Fonte: adaptado de Byju et al., 2013 e Altoé, 2014.

No espectro de RMN de  $^1H$  (Figura 153) foi possível observar o  $\gamma$ -tocoferol como substância majoritária. No entanto, observam-se alguns sinais menos intensos correspondentes a cadeia fitílica ressonando em  $\delta_H$  5,41 (1H, t,  $J = 7,1$  Hz, H-2), característico dos hidrogênios olefínicos em H-2, e  $\delta_H$  4,14 (2H, d,  $J = 7,1$  Hz, H-1), característico do hidrogênio oximetilênico em H-1. Ambos apresentam constante de acoplamento característica de acoplamento vicinal. Adicionalmente, é possível observar um multipeto em  $\delta_H$  1,99 (2H, m, H-4), correspondente ao metileno desblindado em H-4, conforme apresentado na Figura 151.

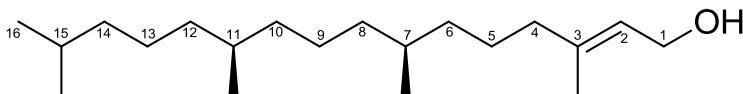
Figura 151. Estrutura parcial proposta para a substância Dj21.



Os demais sinais espectrais não foram identificados claramente, uma vez que se encontram sobrepostos aos sinais do composto majoritário  $\gamma$ -tocoferol.

Os demais espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e bidimensionais não foram obtidos. No entanto, o conjunto dos dados sugere a identificação deste composto minoritário como o fitol (Figura 152), um diterpeno pertencente ao grupo dos álcoois acíclicos insaturados de cadeia longa e ramificada. Apesar de ser amplamente encontrado na natureza, este é o primeiro relato para o gênero *Dictyopteris*.

Figura 152. Estrutura da substância Dj21 (fitol).



O fitol é um dos constituintes da molécula de clorofila, sendo, portanto, produzido por praticamente todos os organismos fotossintetizantes, incluindo algas, plantas e bactérias (cianobactérias). Além de ser utilizado para a síntese de clorofila, também entra na composição dos tocoferóis, filoquinona (vitamina K) e ésteres de ácidos graxos fitílicos. O fitol é derivado do geranylgeraniol por meio da redução de três ligações duplas (GUTBROD et al., 2019).

Atualmente, esta substância é utilizada principalmente como constituinte de cosméticos, como xampus, sabonetes, além de detergentes (ISLAM et al., 2015). No entanto, recentemente têm-se dado maior atenção às suas propriedades biológicas. Neste sentido, Islam et al. (2018) publicaram recentemente uma revisão sobre as principais atividades biológicas reportadas para este composto, destacando-se as atividades citotóxica, antimicrobiana, antioxidante, ansiolítica, antinociceptiva, anti-inflamatória, imunomoduladora, indução da autofagia e apoptose, modulação do metabolismo, entre outras.

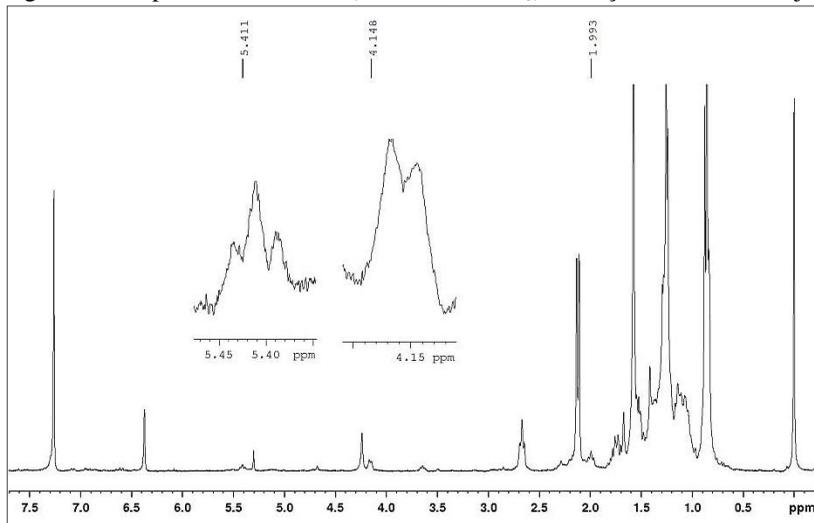
Figura 153. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da fração contendo de Dj21.

Figura 154. Cromatograma obtido por CG-EM da fração contendo a substância Dj21.

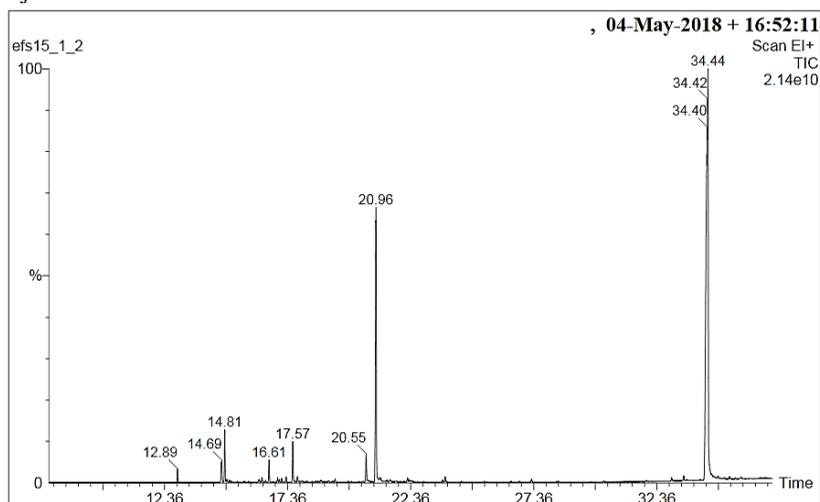
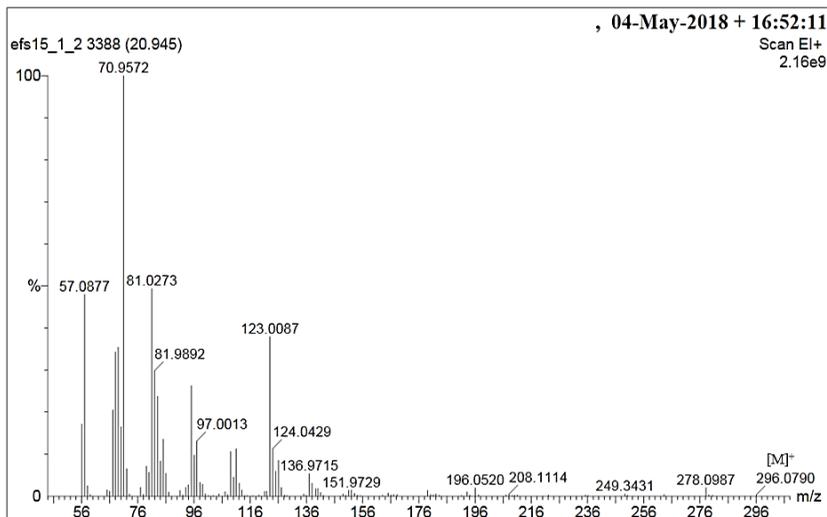


Figura 155. Espectro de massas da substância Dj21 obtido por CG-EM (EI, 70 eV).



#### 4.2.1.4 Esteroides

##### 4.2.1.4.1 Substância Dj19

Dj19 foi obtida como um sólido branco da fração J1C22-34-39, com rendimento total de 15,8 mg, conforme esquema apresentado na Figura 19.

Apresenta-se na CCD em n-Hex:AcOEt (9:1, v/v) como uma mancha com Rf 0,2, que não extingue a fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor roxa.

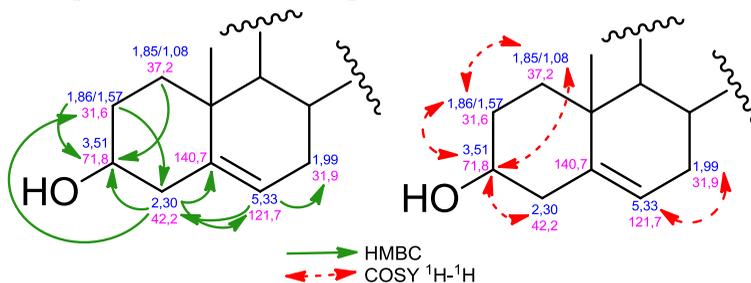
A análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 160 e Tabela 21) e de  $^{13}\text{C}$  (Figura 160) possibilitou identificar um padrão bastante característico de esqueleto esteroidal. O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  revelou a presença de 29 sinais de carbonos, os quais, segundo o espectro de DEPT 135 (Figura 162), correspondem a quatro carbonos quaternários ( $\delta_{\text{C}}$  36,5,  $\delta_{\text{C}}$  42,3,  $\delta_{\text{C}}$  140,7,  $\delta_{\text{C}}$  147,0), nove carbonos metínicos ( $\delta_{\text{C}}$  31,9,  $\delta_{\text{C}}$  34,8,  $\delta_{\text{C}}$  36,6,  $\delta_{\text{C}}$  50,1,  $\delta_{\text{C}}$  55,7,  $\delta_{\text{C}}$  56,7,  $\delta_{\text{C}}$  71,8,  $\delta_{\text{C}}$  115,5,  $\delta_{\text{C}}$  121,7), dez carbonos metilênicos ( $\delta_{\text{C}}$  21,0,  $\delta_{\text{C}}$  24,3,  $\delta_{\text{C}}$  25,6,  $\delta_{\text{C}}$  28,2,  $\delta_{\text{C}}$  31,6,  $\delta_{\text{C}}$  31,9,  $\delta_{\text{C}}$  35,2,  $\delta_{\text{C}}$  37,2,  $\delta_{\text{C}}$  39,7,  $\delta_{\text{C}}$  42,2) e seis carbonos metílicos ( $\delta_{\text{C}}$  11,8,  $\delta_{\text{C}}$  13,2,  $\delta_{\text{C}}$  18,7,  $\delta_{\text{C}}$  19,4,  $\delta_{\text{C}}$  22,1,  $\delta_{\text{C}}$  22,2). Os sinais dos carbonos quaternários em  $\delta_{\text{C}}$  147,0 e  $\delta_{\text{C}}$  140,7, e dos carbonos metínicos em  $\delta_{\text{C}}$  121,7 e  $\delta_{\text{C}}$  115,5 apontam para

um esqueleto do tipo estigmastano, caracterizados pela presença de duas insaturações com deslocamentos químicos similares.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  destaca-se um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  5,33 (1H, d,  $J = 5,2$  Hz, H-6), característico do hidrogênio metínico H-6 desblindado devido a ligação olefínica, apresentando correlação direta com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  121,7 no mapa de HSQC (Figura 163), e correlações a longa distância com o carbono quaternário em  $\delta_{\text{C}}$  140,7 (C-5) e metilênico em  $\delta_{\text{C}}$  31,9 (C-7) no mapa de HMBC (Figura 164). Esta configuração também foi observada no mapa de COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Figura 165) por meio da correlação entre o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,33 (H-6) e os hidrogênios de metileno em  $\delta_{\text{H}}$  1,99 (H-7), os quais estão ligados diretamente ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  31,9 (C-7).

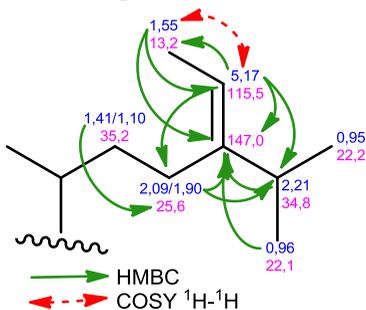
Verifica-se também um multipletto em  $\delta_{\text{H}}$  3,51 (1H, m, H-3), típico para o hidrogênio metínico H-3 devido a desblindagem da hidroxila, o que é confirmado pela correlação direta entre este hidrogênio e o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  71,8 (C-3) no mapa de HSQC. A localização desta hidroxila no anel A é confirmada pelas correlações observadas no mapa de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ , conforme estrutura parcial apresentada na Figura 156.

Figura 156. Primeira estrutura parcial da substância Dj19 com correlações observadas para os anéis A e B nos mapas de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



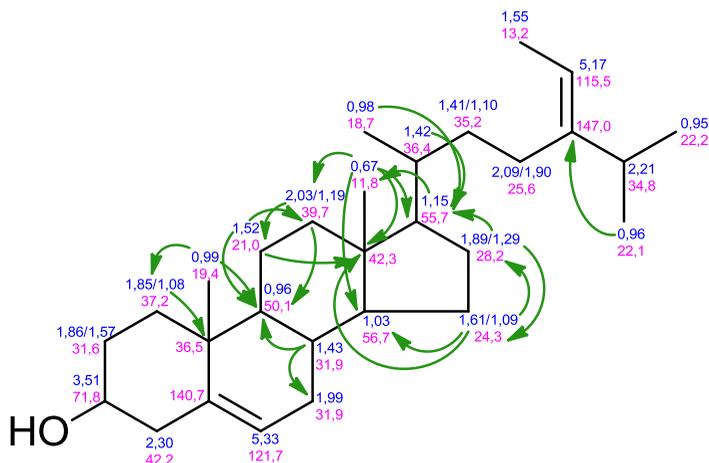
Adicionalmente, o quadrupeto em  $\delta_{\text{H}}$  5,17 (1H, q,  $J = 6,9$  Hz, H-28) refere-se ao hidrogênio olefínico em H-28, o qual apresenta correlação direta com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  115,5 no mapa de HSQC e acoplamento vicinal ( $^3J$ ) com os hidrogênios metílicos desblindados em  $\delta_{\text{H}}$  1,55 (3H, d,  $J = 6,9$  Hz, H-29) no mapa de HMBC. Esta correlação também pode ser observada espacialmente no mapa de COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . Correlações a longa distância também foram observadas com o carbono quaternário em  $\delta_{\text{C}}$  147,0 (H-24), o carbono metínico em  $\delta_{\text{C}}$  34,8 (H-25) e metílico em  $\delta_{\text{C}}$  25,6 (H-23), as quais contribuíram para confirmar a conectividade da cadeia lateral, sugerindo a presença da insaturação entre C-24 e C-28 (Figura 157).

Figura 157. Segunda estrutura parcial da substância Dj19 com correlações observadas na cadeia lateral nos mapas de HMBC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ .



Além da metila desblindada (H-29), os espectros uni e bidimensionais obtidos permitiram evidenciar a presença de outros cinco grupamentos  $\text{CH}_3$ , sendo três dupletos com deslocamentos em  $\delta_{\text{H}}$  0,95 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-26),  $\delta_{\text{H}}$  0,96 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-27) e  $\delta_{\text{H}}$  0,98 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-21), e dois simpletos com deslocamentos de  $\delta_{\text{H}}$  0,67 (3H, s, H-18) e  $\delta_{\text{H}}$  0,99 (3H, s, H-19), os quais correlacionam diretamente com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  22,2 (H-26),  $\delta_{\text{C}}$  22,1 (H-27),  $\delta_{\text{C}}$  18,7 (H-21),  $\delta_{\text{C}}$  11,8 (H-18), e  $\delta_{\text{C}}$  19,4 (H-19), respectivamente. As correlações a longa distância verificadas no mapa de HMBC possibilitaram determinar as posições destas metilas dentro do núcleo esteroidal. Estas correlações e as demais observadas estão representadas na Figura 158.

Figura 158. Estrutura proposta para o composto Dj19 com destaque para as demais correlações observadas no mapa de HMBC.



Dessa forma, a comparação dos dados obtidos com a literatura para esteroides permitiu sugerir que o presente composto trata-se do fucosterol e/ou de seu diastereoisômero isofucosterol, os quais diferem entre si pela configuração da porção isopropila da cadeia lateral (*cis* e *trans*, respectivamente). Ambos diastereoisômeros ocorrem na natureza e estudos demonstraram que a biossíntese da cadeia lateral envolve reações enzimáticas estereoespecíficas, as quais levam à formação de apenas um dos isômeros de C-24 etilideno (GIBBONS et al., 1968).

McInnes e colaboradores (1980) realizaram um estudo comparativo entre esses dois compostos com base em seus espectros de <sup>13</sup>C, permitindo evidenciar algumas particularidades em relação aos deslocamentos químicos da cadeia lateral (Tabela 20). Verificou-se que os carbonos em C-17, C-21, C-22, C-23 e C-28 do fucosterol apresentam-se mais blindados em relação ao isofucosterol, enquanto os carbonos em C-20, C-24, C-25, C-26, C-27 e C-29 apresentam-se mais desblindados. Assim, tendo como base os dados apresentados (Tabela 20), o presente composto foi identificado como fucosterol (5 $\alpha$ -estigmasta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol) (Figura 159).

Tabela 20. Comparação dos dados espectroscópicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  entre Dj19, fucosterol e isofucosterol.

Posição	McInnes et al. (1980) Fucosterol (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ )		McInnes et al. (1980) Isofucosterol (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ )
	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$
17	55,7 (55,71)	55,82	56,05
20	36,5 (36,47)	36,43	36,15
21	18,7 (18,71)	18,77	18,82
22	35,2 (35,19)	35,24	36,00
23	25,6 (25,63)	<b>25,72</b>	<b>27,97</b>
24	147,0 (146,96)	<b>146,95</b>	<b>145,85</b>
25	34,8 (34,77)	<b>34,79</b>	<b>28,63</b>
26	22,2 (22,20)	<b>22,14</b>	<b>21,01</b>
27	22,1 (22,10)	22,25	21,09
28	115,5 (115,52)	<b>115,56</b>	<b>116,49</b>
29	13,2 (13,16)	<b>13,18</b>	<b>12,76</b>

O espectro de massas por CG-EM (IE, 70 eV) (Figura 166) foi obtido para a substância Dj19, porém não foi possível observar o pico correspondente ao íon molecular. Como pico base, registrou-se o íon com  $m/z$  313,5728 ( $\text{M}^+ - \text{C}_7\text{H}_{14}$ ), resultante da perda de parte da cadeia lateral e característico para o núcleo  $\Delta^{24(28)}$ -esteróide (KOMURA et al., 1974). A comparação do perfil de fragmentação com a biblioteca da base de dados NIST confirmou tratar-se do fucosterol.

Figura 159. Estrutura da substância Dp19 (fucosterol).

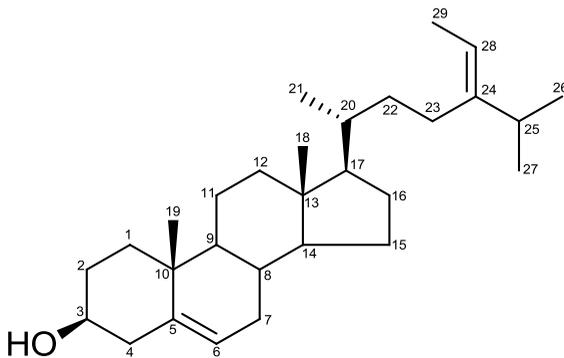


Tabela 21. Dados espectrais de RMN da substância Dj19 obtidos no presente trabalho, em comparação com dados da literatura para o fucosterol.

Posição	Dj19 (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> )			Khanavi et al., 2012 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> )		Ham et al., 2010 (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> )		
	δ <sub>H</sub> (mult., J Hz)	δ <sub>C</sub>	HMBC	COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H	δ <sub>H</sub> (mult., J Hz)	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub> (mult., J Hz)	δ <sub>C</sub>
1	1,85 (1H, m); 1,08 (1H, m)	37,2	36,5; 71,8	-	-	37,28	-	37,2
2	1,86 (1H, m); 1,57 (1H, m)	31,6	42,2; 71,8	1,08	-	31,69	-	31,6
3	3,51 (1H, m)	71,8	-	1,57; 1,85; 2,30	3,52 (1H, m)	71,82	3,53 (1H, m)	71,8
4	2,30 (2H, m)	42,2	31,6; 71,8; 121,7; 140,7	-	-	N.D.	-	42,2
5	-	140,7	-	-	-	140,78	-	140,7
6	5,33 (1H, d, 5,2)	121,7	31,9; 36,5; 42,2	1,99; 2,30	5,35 (1H, sl)	121,70	5,33 (1H, dl, 5,0)	121,7
7	1,99 (2H, m)	31,9	121,7; 140,7	-	-	31,93	-	31,9
8	1,43 (1H, m)	31,9	31,9; 50,1	-	-	31,9	-	31,9
9	0,96 (1H, m)	50,1	-	-	-	50,1	-	50,1
10	-	36,5	-	-	-	36,53	-	36,5
11	1,52 (2H, m)	21,0	39,7; 42,3; 50,1	-	-	21,10	-	21,0
12	2,03 (1H, m); 1,19 (1H, m)	39,7	21,0; 50,1	1,15	-	39,78	-	39,7
13	-	42,3	-	-	-	42,33	-	42,3
14	1,03 (1H, m)	56,7	-	-	-	56,78	-	56,7
15	1,61 (1H, m); 1,09 (1H, m)	24,3	42,3; 56,7; 28,2	-	-	24,33	-	24,3
16	1,89 (1H, m); 1,29 (1H, m)	28,2	24,3; 55,7	-	-	28,24	-	28,2
17	1,15 (1H, m)	55,7	11,8; 42,3	-	-	55,82	-	55,7
18	0,67 (3H, s)	11,8	39,7; 42,3	-	0,69 (3H, s)	11,58	0,66 (3H, s)	11,8
19	0,99 (3H, s)	19,4	37,2; 50,1; 55,7; 56,7	-	1,01 (3H, s)	19,40	0,98 (3H, s)	19,4
20	1,42 (1H, m)	36,4	55,7	-	-	36,43	-	36,4
21	0,98 (3H, d, 6,5)	18,7	55,7	-	0,99 (3H, d)	18,7	0,97 (3H, sl)	18,7
22	1,41 (1H, m); 1,10 (1H, m)	35,2	25,6	-	-	35,2	-	35,2
23	2,09 (1H, m); 1,90 (1H, m)	25,6	34,8; 115,5; 147,0	-	-	25,73	-	25,6
24	-	147,0	-	-	-	147,01	-	146,9
25	2,21 (1H, m)	34,8	147,0	-	2,2 (1H, sep)	34,78	-	34,7
26	0,95 (3H, d, 6,8)	22,2	-	-	0,97 (3H, s)	22,13	0,95 (3H, d, 1,5)	22,2
27	0,96 (3H, d, 6,8)	22,1	147,0	-	0,98 (3H, d)	22,24	0,96 (3H, d, 1,2)	22,1
28	5,17 (1H, q, 6,9)	115,5	13,2; 25,6; 34,8; 147,0	1,55	5,18 (1H, q)	115,5	5,17 (1H, q, 6,5)	115,5
29	1,55 (3H, d, 6,9)	13,2	115,5; 147,0	-	1,57 (3H, d)	13,17	1,55 (3H, d, 7,0)	13,1

N.D. = não determinado.

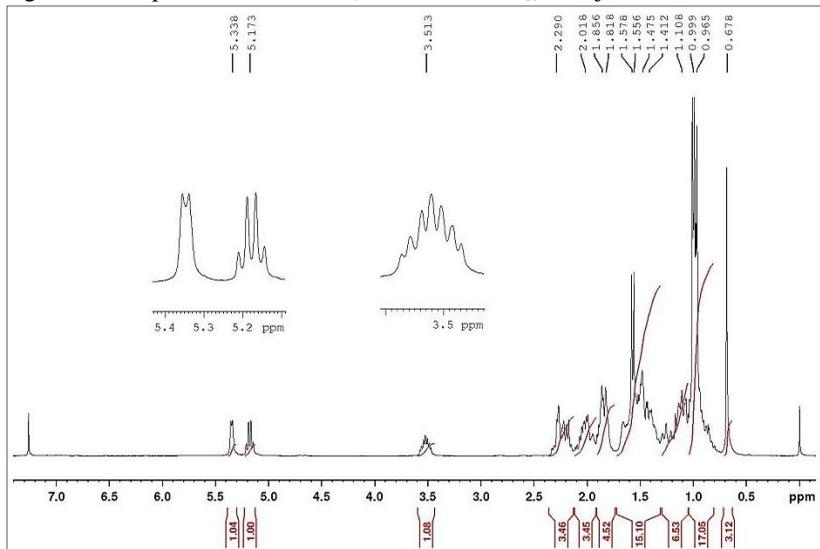
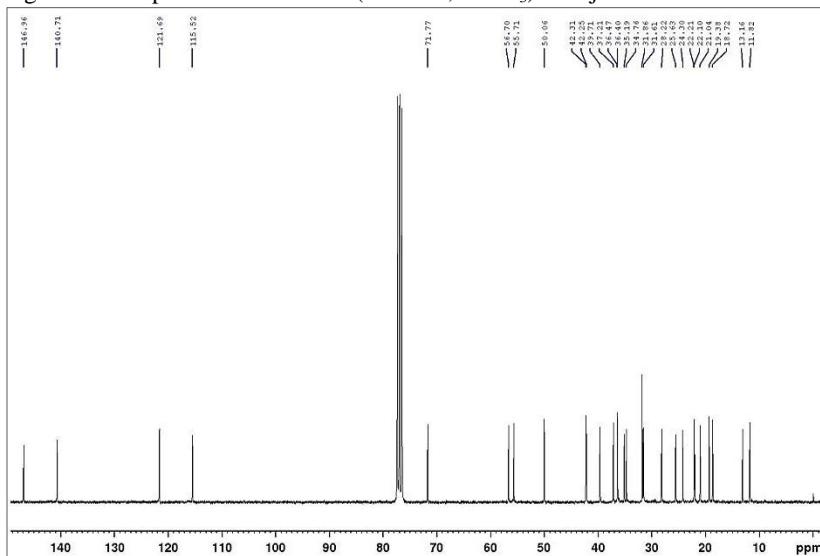
Figura 160. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj19.Figura 161. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj19.

Figura 162. Espectro de RMN DEPT 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj19.

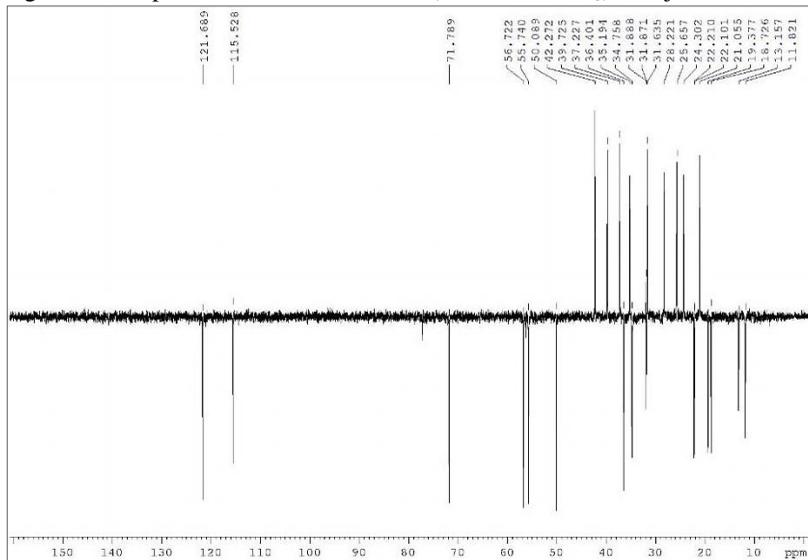
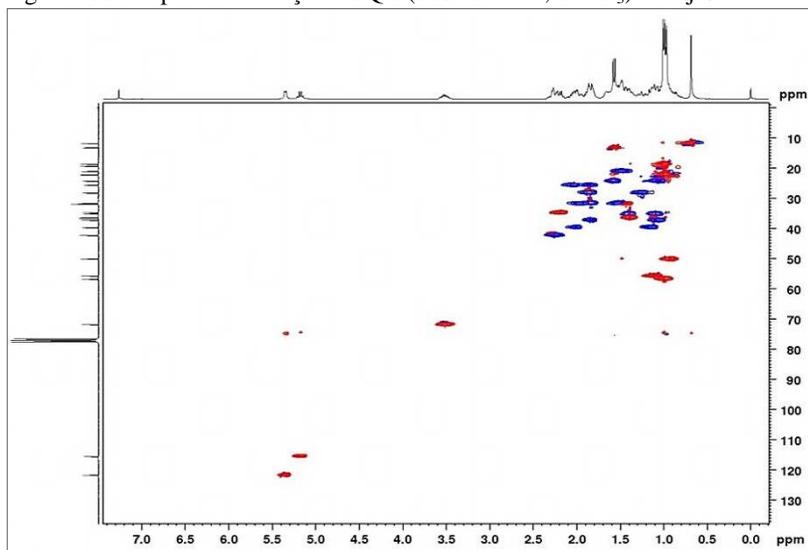


Figura 163. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj19.



\* Sinais em azul correspondem a  $\text{CH}_2$ , sinais em vermelho correspondem a  $\text{CH}$  ou  $\text{CH}_3$ .

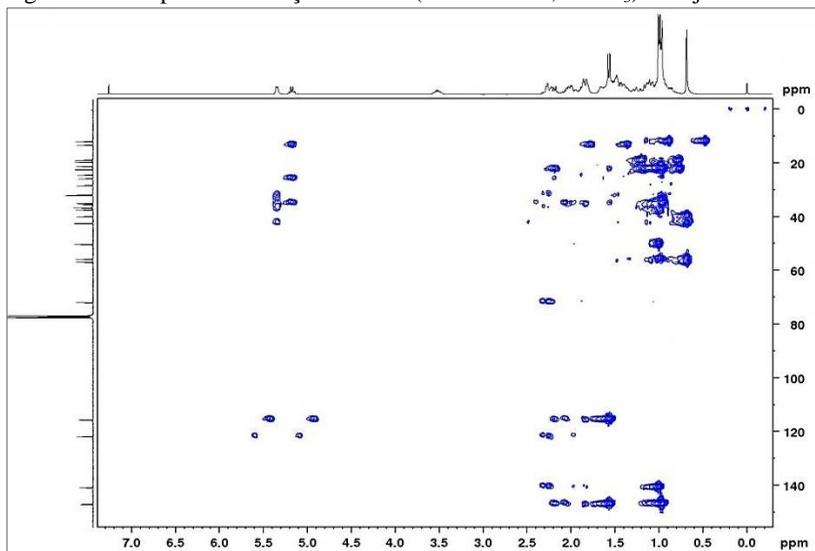
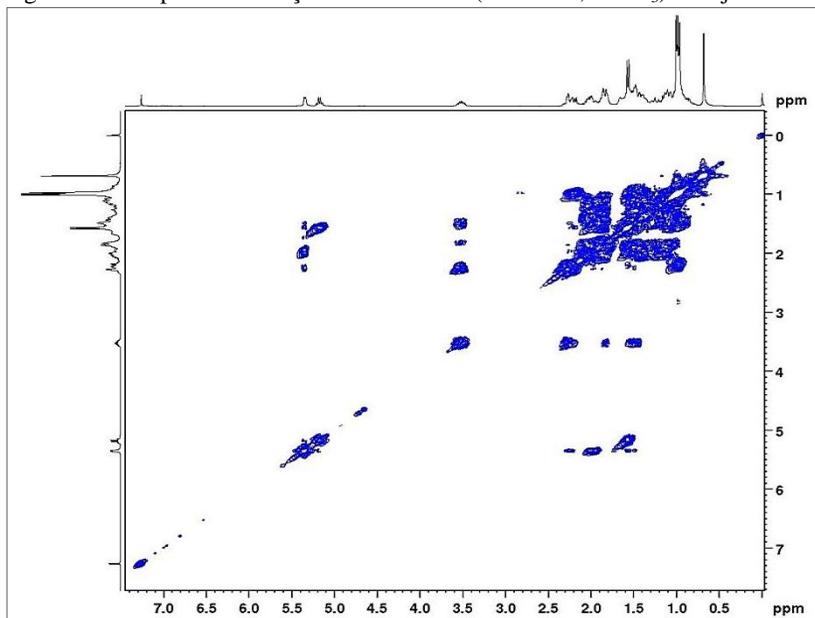
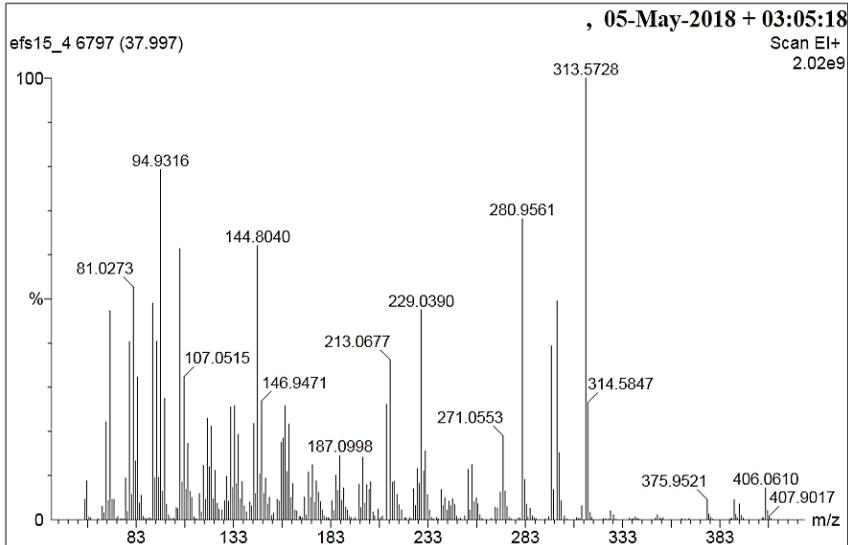
Figura 164. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj19.Figura 165. Mapa de correlação COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj19.

Figura 166. Espectro de massas do composto Dj19 obtido por CG-EM (EI, 70 eV).



O fucosterol já foi reportado para a espécie *D. plagiogramma* coletada na costa do Rio de Janeiro, sendo identificado e quantificado no extrato bruto por CG-EM (FLEURY et al., 1994b) no extrato. Portanto, este constitui o primeiro relato sobre o isolamento, propriamente dito, deste composto na espécie. Este esterol já foi relatado para diversas outras espécies do gênero, como *D. divaricata* (SONG et al., 2004; SONG et al., 2005a; SONG et al., 2006b; IKEKAWA et al., 1968), *D. delicatula* (FLEURY et al., 1994b) e *D. polypodioides* (AMICO et al., 1976).

Como já mencionado, o fucosterol é um esteroide característico de algas, especialmente de algas pardas. Foi um dos primeiros esteroides marinhos conhecidos, sendo isolado pela primeira vez em 1934 a partir da alga *Fucus vesiculosus*, por Heilbron e colaboradores. Há de se destacar que o fucosterol é bastante reativo e pode sofrer um processo de degradação por oxidação ao ar, originando como artefato o saringosterol (FLEURY et al., 1996).

O fucosterol já foi largamente estudado com relação às suas propriedades biológicas. Em um trabalho de revisão recente, Abdul e colaboradores (2016) compilaram diversos estudos sobre os seus efeitos, destacando-se atividades citotóxica, antidiabética, antioxidante, anti-

inflamatória, hepatoprotetora, antihiperlipidêmica, antifúngica, antihistamínica, anticolinérgica, antiadipogênica, etc.

#### 4.2.1.5 Derivados de ácido ftálico

##### 4.2.1.5.1 Substância Dj12

Dj12 foi obtida como um óleo incolor das frações J1CL5-3, J1CL7-3-4 e J1C17-31-49, com rendimento total de 7,9 mg, conforme esquema apresentado nas Figuras 16 e 18.

Apresenta-se na CCD em Hex:AcOEt (96:4, v/v) como uma mancha com Rf 0,4, com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído, adquire cor marrom.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 168 e Tabela 22) apresentou sinais característicos de hidrogênios de anel aromático pertencentes a um sistema 1,2-dissubstituído, exibindo um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  7,68 (2H, dd,  $J = 7,8$  e  $3,4$  Hz, H-1) e  $\delta_{\text{H}}$  7,51 (2H, dd,  $J = 7,8$  e  $3,4$  Hz, H-2). As constantes de acoplamento de 7,8 Hz e 3,4 Hz são características para hidrogênios em posição orto e meta, respectivamente (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007). Também foi possível observar um multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  4,20 (4H, m, H-3), sugerindo hidrogênios vicinais a um átomo eletronegativo. Estas características espectrais apresentaram similaridade com o padrão de ftalatos, porém a cadeia lateral apresenta grandes variações entre eles. Os sinais ressonando entre  $\delta_{\text{H}}$  1,25-1,30 (12H, m, H-7, H-8, H-9) e  $\delta_{\text{H}}$  1,35-1,39 (4H, m, H-11) sugeriram tratar-se de metilenos de cadeia alquílica, enquanto o multiplete ressonando em  $\delta_{\text{H}}$  1,67 (1H, m, H-6) indicou tratar-se de um metino. Foi possível também observar a presença de duas metilas em  $\delta_{\text{H}}$  0,89 (6H, m, H-10, H-12). Portanto, os dados sugeriram um derivado de ácido ftálico com cadeia alifática ramificada.

O espectro de massas de alta resolução (ESI+)EMAR (Figura 169) da substância Dj12 apresentou um íon de  $m/z$  391,2893, referente ao pico do íon molecular  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , e outro íon de  $m/z$  413,2717, referente ao aduto de sódio  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . O primeiro íon apresentou massa compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{O}_4$  (calculado  $m/z$  391,2923).

A comparação com dados da literatura permitiu identificar a presente substância como sendo o ftalato de bis(2-etil-hexila) (Figura 167). Este composto já foi reportado para as algas pardas *Undaria pinnatifida* e *Laminaria japonica*, a alga verde *Ulva* sp. (NAMIKOSHI et al., 2006), e a alga vermelha *Bangia atropurpurea* (CHEN, 2004). Além disso, este

composto já foi isolado de fungos como *Streptomyces bangladeshensis* (AL-BARI et al., 2005), e bacterias, como *Brevibacterium mcbrellnerii* (RAJAMANIKYAM et al., 2017).

Figura 167. Estrutura da substância Dj12 (ftalato de bis(2-etil-hexila).

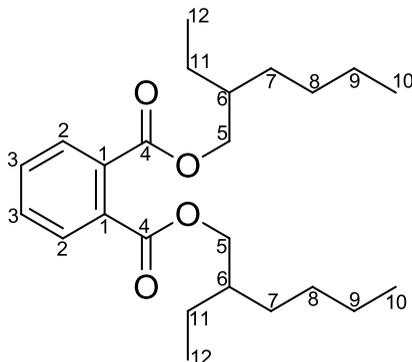


Tabela 22. Dados espectrais de RMN da substância Dj12 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para a substância ftalato de bis(2-etil-hexila).

Posição	$\delta_H$ (mult., J Hz)		
	Dj12 (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	Garg, Bisht e Ling (2014) (600 MHz, DMSO)	Rajamanikyam et al. (2017) (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> )
2	7,68 (2H, dd, 7,8; 3,4)	7,7 (2H, dd, 8,8; 3,1)	7,72-7,69 (2H, m)
3	7,51 (2H, dd, 7,8; 3,4)	7,5 (2H, dd, 8,8; 3,1)	7,53-7,50 (2H, m)
5	4,20 (4H, m)	4,21-4,23 (4H, m)	4,24-4,21 (4H, m)
6	1,67 (2H, m)	1,61-1,65 (2H, m)	- <sup>a</sup>
7	1,25-1,33 (4H, m)	1,23-1,32 (4H, m)	1,45-1,32 (4H, m)
8	1,25-1,33 (4H, m)	1,23-1,32 (4H, m)	1,45-1,32 (4H, m)
9	1,25-1,33 (4H, m)	1,23-1,32 (4H, m)	1,45-1,32 (4H, m)
10	0,89 (6H, t, 7,2)	0,85 (6H, t)	0,92 (t, 6H)
11	1,35-1,39 (4H, m)	1,32-1,34 (4H, q)	1,45-1,32 (4H, m)
12	0,89 (6H, m)	0,80 (6H, t)	0,92 (6H, t)

<sup>a</sup> Os autores não informaram o deslocamento químico.

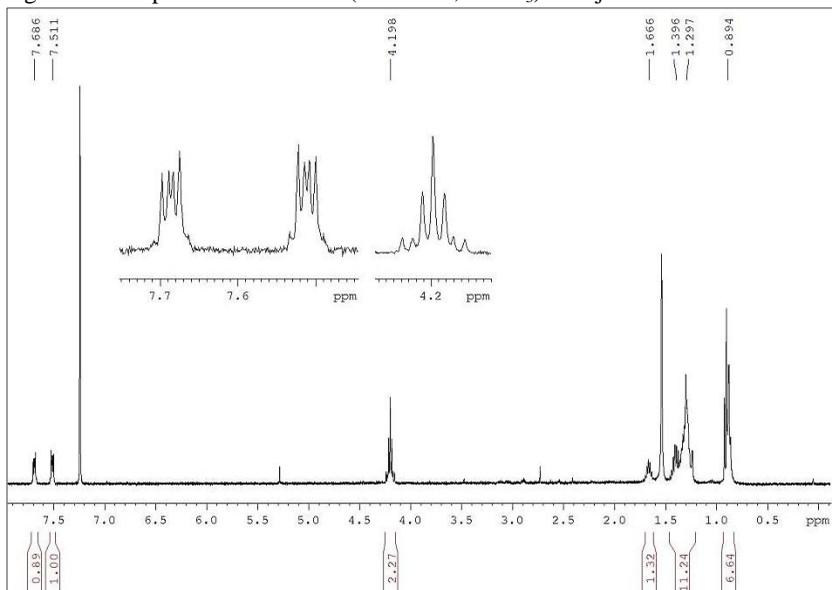
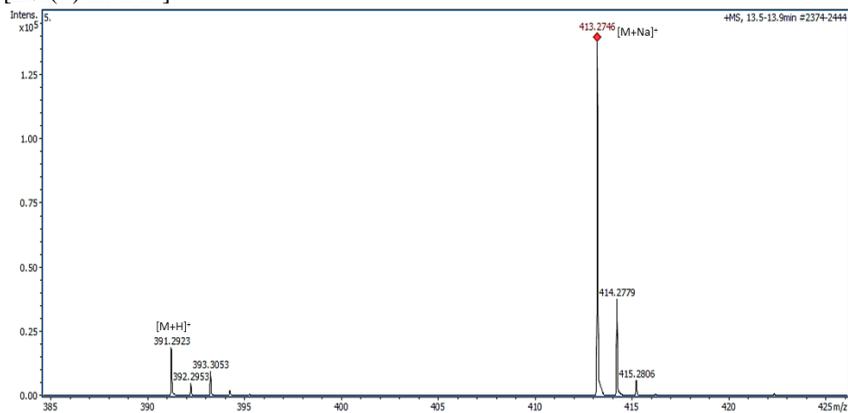
Figura 168. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj12.

Figura 169. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj12 obtido por [ESI(+)-EMAR].



#### 4.2.1.5.2 Substância Dj14

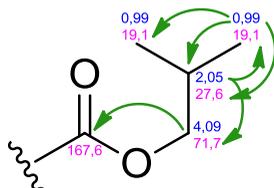
Dj14 foi obtido como um óleo incolor das frações J1C12-46-49 e J1CL8-1, com rendimento total de 9,2 mg, e na forma impura na fração J1C17-63-68, conforme esquema apresentado nas Figuras 16 e 18.

Apresenta-se na CCD em n-Hex:AcOEt (96:4, v/v) como uma mancha com Rf 0,4, com extinção de fluorescência em 254 nm; após revelação com solução acidificada de anisaldeído adquire cor roxa, tornando-se rosada com o tempo.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 172 e Tabela 23) apresentou grande similaridade com o espectro do composto Dj12, sugerindo tratar-se de outro éster de ácido ftálico. É possível observar os sinais mais desblindados em  $\delta_{\text{H}}$  7,73 (2H, dd,  $J = 5,8$  e  $3,4$  Hz, H-1) e  $\delta_{\text{H}}$  7,54 (2H, dd,  $J = 5,8$  e  $3,4$  Hz, H-2), característicos dos hidrogênios aromáticos pertencentes ao sistema 1,2-dissubstituído.

As principais diferenças encontradas se referem à presença de um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  4,09 (2H,  $J = 6,7$  Hz, H-3) ligado diretamente a um carbono ressonando em  $\delta_{\text{C}}$  71,7, e acoplando com um septeto em  $\delta_{\text{H}}$  2,04 (2H,  $J = 6,7$  Hz, H-4), o qual possui correlação direta com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  27,6 no mapa de HSQC (Figura 174). Estes dados indicaram a presença de um grupo isobutílica ao invés de uma cadeia linear, como foi observado para a substância Dj12. Por meio do mapa de HMBC (Figura 175) foi possível observar algumas correlações importantes para esta cadeia lateral, as quais estão demonstradas na Figura 170.

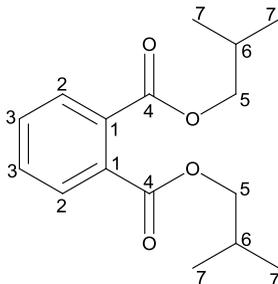
Figura 170. Estrutura parcial da substância Dj14 com correlações observadas na cadeia lateral no mapa de HMBC.



O espectro de massas de alta resolução (ESI+)EMAR (Figura 176) da substância Dj14 apresentou um íon de  $m/z$  279,1596, referente ao pico do íon molecular  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , e outro íon de  $m/z$  301,1416, referente ao aduto de sódio  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . O primeiro íon apresentou massa compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{O}_4$  (calculado  $m/z$  279,1620).

A comparação com os dados da literatura permitiu identificar a substância Dj14 como ftalato de di-isobutila (Figura 171) (LIRA, 2013).

Figura 171. Estrutura da substância Dj14 (ftalato de di-isobutila).



Esta substância já foi relatada para outras algas, como as algas vermelhas *Bryothamnion triquetrum*, coletada no litoral da Paraíba (Brasil) (LIRA, 2013), *Plocamium brasiliense* e *Ochtodes secundiramea*, coletadas no litoral do Espírito Santo (Brasil) (GRESSLER et al., 2010) e a alga verde *Chaetomorpha basiretorsa* coletada na China (SHI et al., 2005).

Tabela 23. Dados espectrais de RMN da substância Dj14 obtidos no presente trabalho e em comparação com a literatura para a substância ftalato de di-isobutila.

Posição	Dj14 (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> )			LIRA, 2013 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)	$\delta_{\text{C}}$	HMBC	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	-	132,3	-	-	132,4
2	7,73 (2H, dd, 5,8; 3,4)	128,8	130,9; 167,6; 132,3	7,70 (2H, dd, 5,5; 3,5)	128,8
3	7,54 (2H, dd, 5,8; 3,4)	130,9	128,8; 167,6; 132,3	7,51 (2H, dd, 5,5; 3,5)	130,9
4	-	167,6	-	-	167,6
5	4,09 (4H, d, 6,7)	71,7	19,1; 27,6; 132,3; 167,6	4,09 (4H, d, 6,5)	71,8
6	2,04 (2H, sept, 6,7)	27,6	19,1; 71,7	2,02 (7H, sept, 7) <sup>a</sup>	27,7
7	0,99 (12H, d, 6,7)	19,1	19,1; 27,6; 71,7	0,97 (12H, d, 6,5)	19,1

<sup>a</sup> Valor da integração para 7H atribuído erroneamente pelo autor, haja vista que a estrutura apresentada corresponde ao ftalato de di-isobutila.

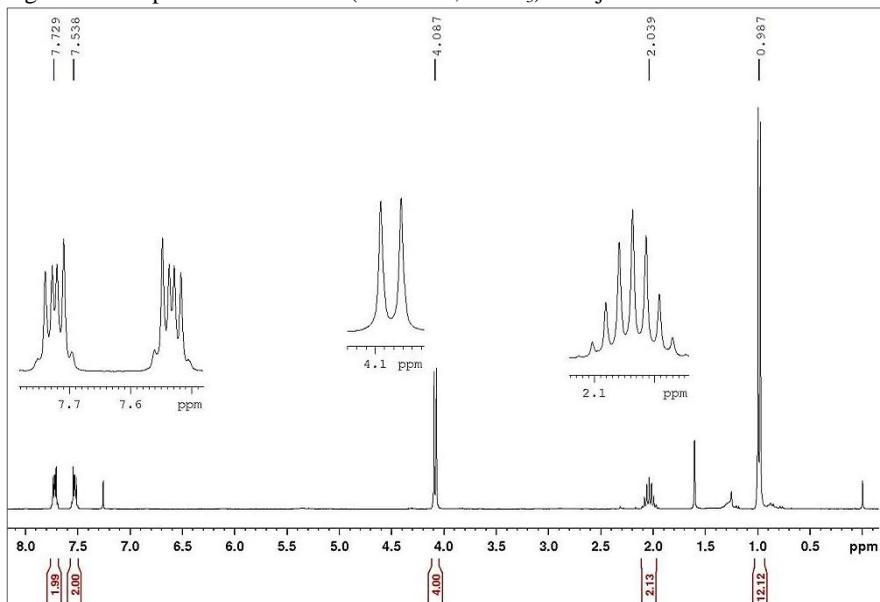
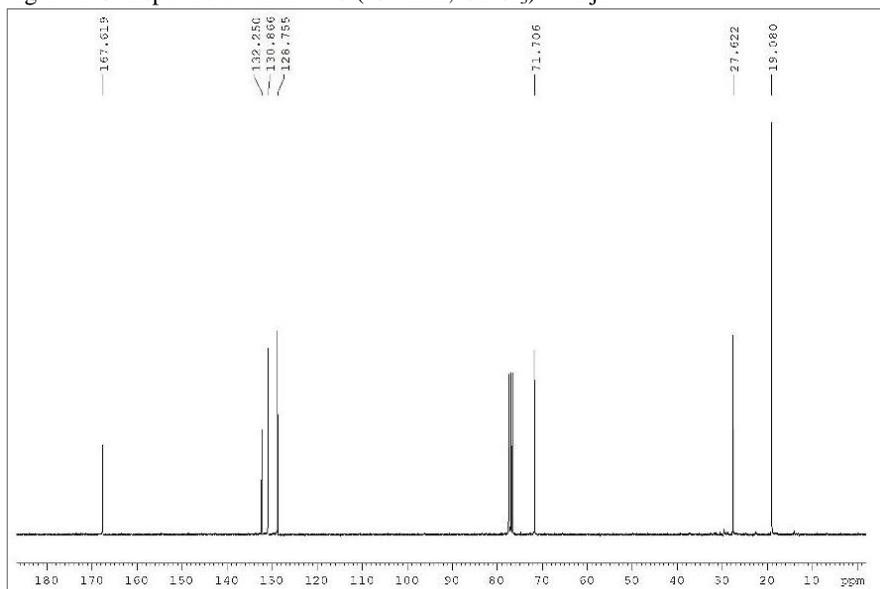
Figura 172. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj14.Figura 173. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Dj14.

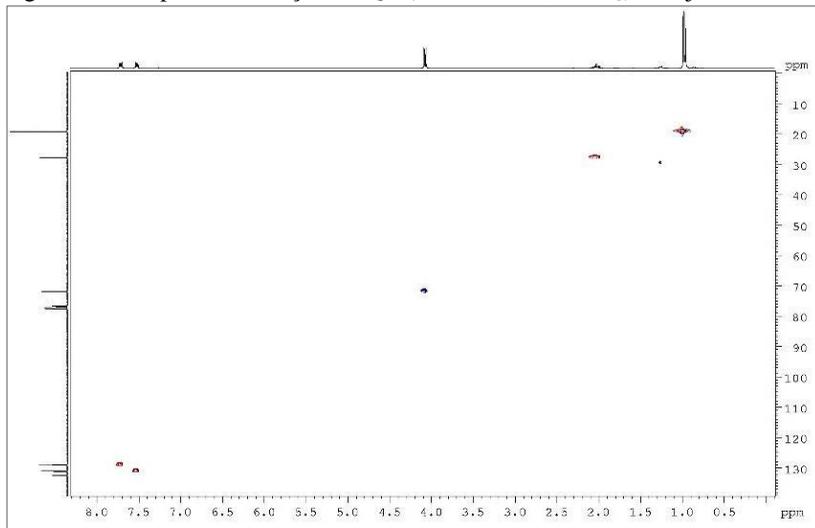
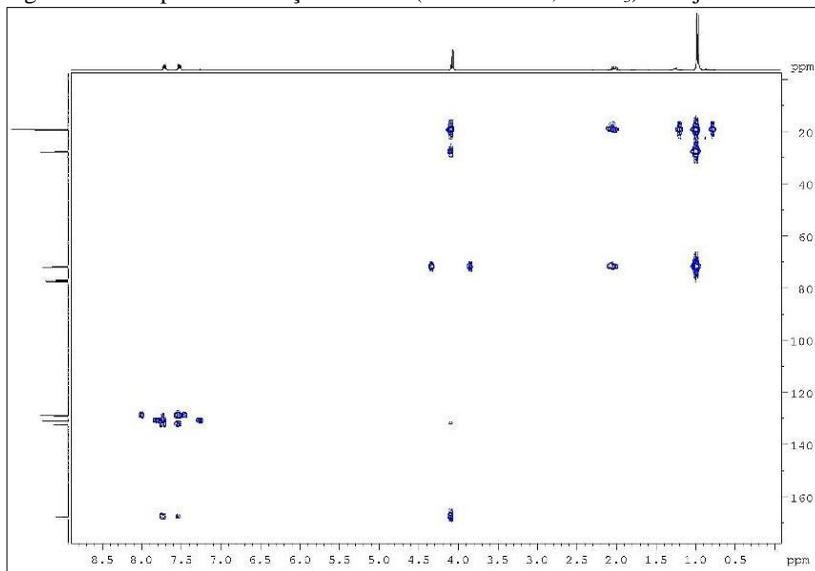
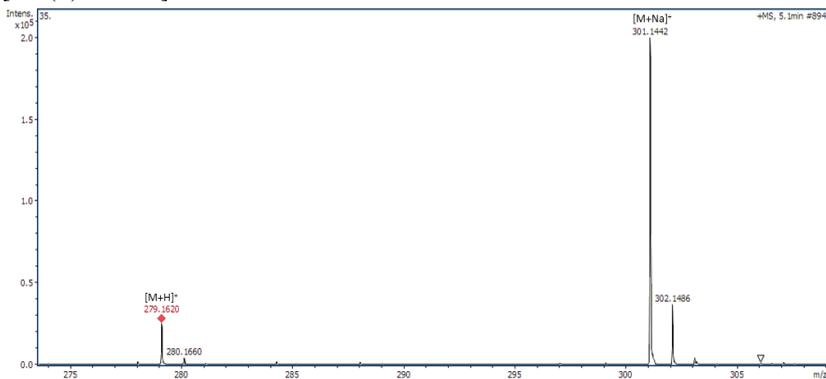
Figura 174. Mapa de correlação HSQC (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Dj14.Figura 175. Mapa de correlação HMBC (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de Dj14.

Figura 176. Espectro de massas de alta resolução do composto Dj14 obtido por [ESI(+)-EMAR].



### 4.3 ESTUDO QUÍMICO DO EXTRATO DP-VII

#### 4.3.1 Substâncias isoladas

Assim como já referido para o extrato DJ-I, o extrato DP-VII foi submetido a fracionamento cromatográfico, o qual resultou no isolamento de alguns compostos; posteriormente algumas frações impuras foram reunidas e submetidas a um novo esquema cromatográfico, conforme apresentado na Figura 178. A descrição detalhada dos procedimentos cromatográficos adotados em cada uma das etapas pode ser encontrada no Apêndice A.

A partir do fracionamento do extrato DP-VII foram isoladas oito substâncias, denominadas de Dp1 a Dp8 (Figura 177 e Tabela 24). Todos estes compostos já foram descritos anteriormente para o extrato DJ-I, correspondendo a seis compostos do tipo C<sub>11</sub> contendo enxofre, além do  $\gamma$ -tocoferol (Dp1) e fucosterol (Dp7).

Com exceção do composto Dp2, o qual foi isolado de uma amostra de *D. plagiogramma* coletada no Havaí (ROLLER; AU; MOORE, 1971), este é o primeiro relato do isolamento destes compostos para a espécie. O composto Dp7 apenas foi identificado no extrato de *D. plagiogramma* por CG-EM (FLEURY et al., 1994b). Além disso, como mencionado anteriormente, os compostos Dp3, Dp6 e Dp8 são inéditos na literatura.

Tabela 24. Compostos isolados do extrato DP-VII.

Substância	Identificação	Quantidade (mg)
Dp1 (Dj20)	$\gamma$ -tocoferol	5,4
Dp2 (Dj13)	3-hexil-4,5-ditiaciclo-heptanona	5,5
Dp3 (Dj7)	( <i>E</i> )-1-(metildissulfanil)undec-4-en-3-ona	6,5
Dp4 (Dj5)*	( <i>E</i> )-1-(5-metiltio-3-oxo-undecil)dissulfanilundec-4-en-3-ona	12,4
Dp5 (Dj1)	bis( <i>E</i> )-(3-oxo-undec-4-enil)dissulfeto	2,3
Dp6 (Dj11)	(4 <i>E</i> )-1-[(3-oxo-1-[(4 <i>E</i> )-3-oxoundec-4-en-1-il]disulfanil]undecan-5-il]disulfanil]undec-4-en-3-ona	1,7
Dp7 (Dj19)	Fucoesterol	1,0
Dp8 (Dj26)	1-(metildissulfanil)-5-(metiltio)undecan-3-ona	3,8

N.I. = Não identificado.

\* Composto não puro.

Figura 177. Compostos isolados do extrato DP-VII.

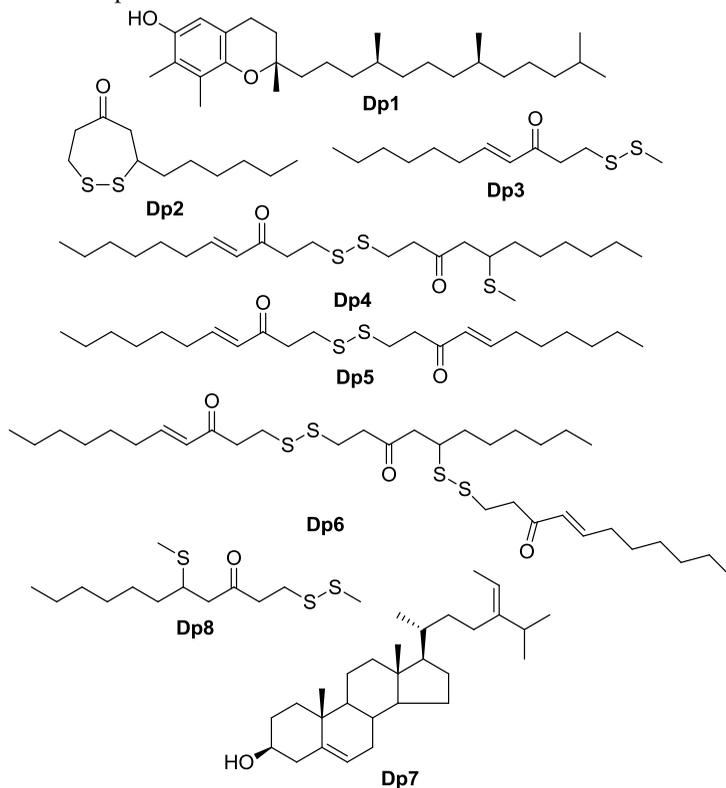
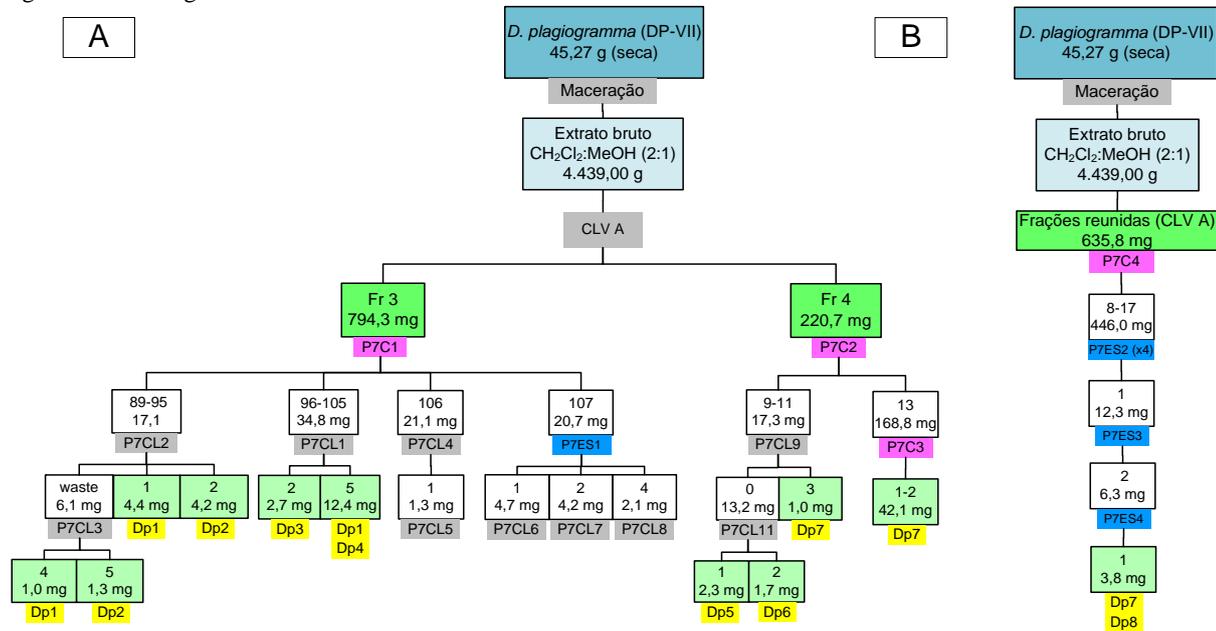


Figura 178. Fluxograma do fracionamento do extrato DP-VII.



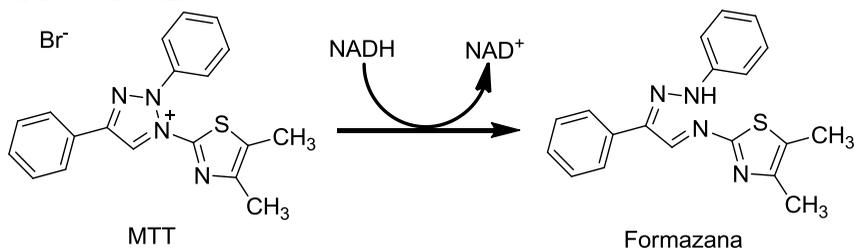
\* A: Primeiro esquema de fracionamento; B: Segundo esquema de fracionamento (amostras das frações reunidas). P7C (rosa): Cromatografia em coluna aberta; P7ES (azul): Extração em fase sólida; P7CL (cinza): Cromatografia líquida de alta eficiência; CLV (cinza): Cromatografia líquida a vácuo.

## 4.4 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS

### 4.4.1 Atividade citotóxica

A avaliação da atividade citotóxica foi realizada com base na determinação da viabilidade celular pela técnica do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) (Figura 179). Células viáveis realizam endocitose do MTT (um sal de coloração amarela e solúvel em água) convertendo o mesmo a formazana (de cor azul). O mecanismo exato da transformação ainda não é perfeitamente entendido, porém estudos têm demonstrado o envolvimento de enzimas mitocondriais e de moléculas como o NADH, ou moléculas redutoras semelhantes, que transferem elétron para o MTT (RISS et al., 2016).

Figura 179. Representação da transformação do MTT em formazana no ensaio de atividade citotóxica.



Fonte: Riss et al., 2016.

Os resultados da avaliação da atividade citotóxica de extratos, frações e alguns compostos estão apresentados na Tabela 25. Tanto os extratos como as frações foram avaliados utilizando-se células da linhagem HCT-116 como método de triagem inicial. Os resultados foram expressos na forma de  $CI_{50}$ , ou seja, concentração da amostra capaz de reduzir a viabilidade celular em 50 %. Por conta de mudanças no protocolo interno do grupo parceiro, algumas amostras foram avaliadas na concentração de 100,0  $\mu\text{g/mL}$ , enquanto outras na concentração de 50,0  $\mu\text{g/mL}$ .

De maneira geral, pode-se verificar que dos 21 extratos testados, apenas quatro (DP-I, DP-III, DP-IV, DP-VI) reduziram mais de 50 % da viabilidade celular em concentrações abaixo de 50  $\mu\text{g/mL}$ . Nota-se que os extratos de *D. plagiogramma* foram os que apresentam maior potencial citotóxico, com destaque para o extrato DP-VI ( $CI_{50} = 18,2 \mu\text{g/mL}$ ). Com relação aos extratos de *D. jolyana*, o extrato DJ-I foi o que apresentou

maior potencial citotóxico ( $CI_{50} = 57,5 \mu\text{g/mL}$ ), porém nenhum dos extratos apresentou  $CI_{50}$  abaixo de  $50 \mu\text{g/mL}$ .

Por conta do perfil diferenciado do extrato DJ-I em relação aos demais desta espécie, algumas de suas frações e compostos também foram avaliados. Os resultados apontaram que as frações DJ-I-D e DJ-I-I apresentaram maior potencial citotóxico que o extrato original, com valores de  $CI_{50}$  de 23,7 e 18,6  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Como já descrito anteriormente, a fração DJ-I-D mostrou-se rica em compostos contendo enxofre, além de ftalatos e tocoferóis. A composição química da fração DJ-I-I ainda não foi determinada, no entanto, por meio de análises de RMN de  $^1\text{H}$  e CCD, foi observada a presença de clorofilas, triglicerídeos e do composto Dj19 (fucosterol).

Quatro dissulfetos e dois ftalatos isolados da fração DJ-I-D foram testados também. Apenas os dissulfetos Dj1 e Dj5, além do ftalato Dj14 apresentaram  $CI_{50}$  abaixo de  $50 \mu\text{g/mL}$ . Dessa forma, estes compostos também foram avaliados para as demais linhagens B16-F10 (melanoma metastático murino), PC3-M (carcinoma de próstata metastático humano), e 293A (linhagem normal de célula de rim embrionário). O composto Dj5 mostrou-se menos tóxico para estas linhagens celulares, especialmente a linhagem de células normais 293A, indicando assim uma maior seletividade para células cancerígenas. Já o composto Dj1 apresentou maior toxicidade, especialmente para a linhagem de células normais 293A (cerca de 10 vezes maior que o composto Dj5).

Considerando os resultados obtidos para os compostos Dj1, Dj5 e Dj17, pode-se sugerir que a maior toxicidade do composto Dj1 está relacionada à presença da dupla ligação, sendo que sua ausência ou substituição parece diminuir significativamente a atividade citotóxica, especialmente para células saudáveis.

Em estudo anterior o composto Dj13 foi avaliado frente a células de linhagem normal RAW 264.7 (macrófagos murinos), demonstrando atividade citostática em concentrações acima de  $85 \mu\text{M}$  (DIMOU et al., 2016), corroborando os resultados encontrados nesta tese. Em relação aos demais compostos contendo enxofre relatados para o gênero *Dictyopteris*, não há estudos de citotoxicidade. No entanto, extratos de outras espécies de *Dictyopteris* já demonstraram potencial citotóxico proeminente, conforme descrito na revisão bibliográfica.

Tabela 25. Resultados da avaliação preliminar da atividade citotóxica (CI<sub>50</sub> (CI 95 %) em µg/mL).

	CI <sub>50</sub> (IC 95 %) em µg/mL			
	HCT-116	B16-F10	PC3-M	293A
<b>Extratos</b>				
DJ-I	57,5 (50,6 a 65,4)	-	-	-
DJ-II	89,2 (53,82 a 147,0)	-	-	-
DJ-III	74,4 (43,0 a 125,0)	-	-	-
DJ-IV	> 100,0	-	-	-
DJ-V	81,1 (43,6 a 150,0)	-	-	-
DJ-VI <sup>b</sup>	> 100,0	-	-	-
DJ-VIII <sup>b</sup>	> 50,0	-	-	-
DJ-VII	> 50,0	-	-	-
DJ-IX <sup>b</sup>	> 50,0	-	-	-
DJ-X <sup>b</sup>	> 50,0	-	-	-
DP-I	32,7 (18,8 a 56,8)	-	-	-
DP-II	51,0 (36,4 a 71,5)	-	-	-
DP-III	44,8 (27,6 a 72,0)	-	-	-
DP-IV	36,5 (26,0 a 49,7)	-	-	-
DP-V	52,0 (38,0 a 70,0)	-	-	-
DP-VI	18,2 (14,5 a 22,0)	-	-	-
DP-VII <sup>b</sup>	> 50,0	-	-	-
DP-VIII <sup>b</sup>	> 50,0	-	-	-
DP-IX <sup>b</sup>	> 50,0	-	-	-
<b>Frações do extrato DJ-I</b>				
DJ-I-D	23,7 (18,6 a 30,1)	-	-	-
DJ-I-E	53,6 (42,9 a 66,9)	-	-	-
DJ-I-F	> 100,0	-	-	-
DJ-I-G	70,9 (37,5 a 134,3)	-	-	-
DJ-I-H	56,3 (40,3 a 78,7)	-	-	-
DJ-I-I	18,6 (13,4 a 25,8)	-	-	-
<b>Compostos</b>				
Dj1	15,8 (6,4 a 38,8)	38,6 (34,7 a 43,0)	20,0 (17,1 a 23,5)	8,11 (4,9 a 13,6)
Dj5	16,4 (15,1 a 17,8)	49,6 (35,7 a 68,9)	58,8 (37,7 a 91,6)	82,0 (70,5 a 95,3)
Dj12 <sup>b</sup>	> 50,0	-	-	-
Dj13 <sup>b</sup>	> 50,0	-	-	-
Dj14 <sup>b</sup>	38,6 (33,0 a 45,1)	-	-	-
Dj17 <sup>b</sup>	> 50,0	-	-	-
<b>Dox<sup>a</sup></b>	0,45 (0,35 a 0,58)	0,03 (0,02 a 0,04)	0,36 (0,17 a 0,78)	0,16 (0,13 a 0,22)

\* Os dados estão apresentados na forma de concentração inibitória média (CI<sub>50</sub>) e seu respectivo intervalo de confiança 95 % (IC 95 %). Os experimentos foram realizados em triplicata. Linhagens: HCT-116: carcinoma colorretal humano; B16-F10: melanoma metastático murino; PC3-M: carcinoma de próstata metastático humano; 293A: célula de rim embrionário (linhagem normal).

<sup>a</sup> Controle positivo (doxorubicina).

<sup>b</sup> Amostras avaliadas na concentração de 50 µg/mL. As demais amostras foram avaliadas na concentração de 100 µg/mL.

#### 4.4.2 Atividade amebicida

A atividade contra trofozoítos de *A. castellanii* foi avaliada para o extrato DJ-I, algumas de suas frações e o composto Dj1. Os resultados na forma de  $CI_{50}$  (concentração da amostra necessária para reduzir em 50 % a viabilidade celular) ou % de morte celular podem ser visualizados na Tabela 26. Como este ensaio demanda maior quantidade de amostra, optou-se por escolher o extrato com maior rendimento em termos de massa, possibilitando também a análise de algumas frações e um dos seus compostos majoritários.

De maneira geral, observou-se uma diminuição do número de trofozoítos viáveis de *A. castellanii* na presença do extrato bruto DJ-I durante o período experimental (48 horas), com  $CI_{50}$  de  $2,34 \pm 0,38$  mg/mL. Os valores de  $CI_{50}$  de DJ-I-D ( $1,05 \pm 4,21$  mg/mL) e DJ-I-H ( $1,58 \pm 1,16$  mg/mL) foram inferiores ao do extrato bruto. Foram observadas também alterações morfológicas durante a incubação com o extrato e as frações, incluindo alongamento e lise celular, mostrando notável efeito amebicida, porém não induzindo o encistamento. Este fato é importante, uma vez que o encistamento poderia levar à resistência por parte da ameba.

Diferentemente do extrato e das frações, o composto Dj1 apresentou fraca atividade amebicida, causando menos de 35 % de morte celular. Como este composto foi isolado da fração DJ-I-D (rica em compostos contendo enxofre), acredita-se que o efeito observado para esta fração é resultado de um efeito sinérgico entre os diversos compostos contendo enxofre, bem como os demais compostos identificados, como os ftalatos (que apresentaram certa toxicidade em estudos encontrados na literatura).

A fração DJ-I-H também foi analisada por apresentar um perfil químico diferenciado das primeiras. O resultado apresentado por esta fração foi considerado bastante promissor, no entanto, sua constituição química ainda não foi determinada. Por meio da análise do espectro de RMN de  $^1H$  observa-se apenas a ausência de sinais correspondentes aos dissulfetos, porém esta fração mostra-se rica em triglicerídeos e fucosterol.

A atividade amebicida contra os cistos de *A. castellanii* foi avaliada para as frações e o composto Dj1, porém nenhuma das amostras apresentou resultado significativo em relação ao controle negativo, o que pode ser explicado pelo fato de que os cistos são mais resistentes às condições adversas do meio e menos susceptíveis ao efeito dos compostos, em relação aos trofozoítos (HEREDERO-BERMEJO et al., 2016).

Recentemente, Chiboub et al. (2017) relataram a atividade amebicida de diferentes extratos (Hex, AcOEt e MeOH) de algas coletadas na Tunísia. Este foi o primeiro relato da avaliação desta atividade em algas marinhas, incluindo as espécies de algas pardas *Cladostephus spongiosum*, *Cystoseira sedoides*, *Dictyota spiralis*, *Padina pavonica* e *Halopteris scoparia*, além da alga vermelha *Peyssonelia squamaria* e da alga verde *Ulva compressa*. Os resultados de  $CI_{50}$  variaram de  $52,3 \pm 1,8 \mu\text{g/mL}$  para o extrato AcOEt de *Peyssonelia squamaria* até  $134,6 \pm 0,7 \mu\text{g/mL}$  para o extrato Hex desta mesma espécie. Esses resultados foram considerados bastante promissores, no entanto, não é possível comparar diretamente com os resultados encontrados para *Dictyopteria*, uma vez que o tempo de incubação dos parasitas com os extratos naquele trabalho foi de até 120 horas, bastante superior ao utilizado na presente tese (48 horas).

Outro estudo, realizado por García-Davis et al. (2018), demonstrou o potencial amebicida da alga marinha *Laurencia johnstonii* e diversos metabólitos halogenados. O extrato bruto apresentou um valor de  $CI_{50}$  de  $125,14 \pm 4,5 \mu\text{g/mL}$  e seis compostos apresentaram atividade bastante promissora, com  $CI_{50}$  variando de  $90,674 \pm 1,529$  a  $18,804 \pm 0,198 \mu\text{g/mL}$ . O tempo de incubação (96 horas) também foi superior ao utilizado na presente tese.

Sifaoui e colaboradores (2014) testaram os extratos acetato de etila e metanol de folhas de oliveira, os quais apresentaram  $CI_{50}$  de  $5,11 \pm 0,71$  e  $9,54 \pm 0,33 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente, frente a cepa de *Acanthamoeba castellanii* Neff (ATCC 30010). O fracionamento bioguiado do extrato mais promissor levou ao isolamento dos compostos bioativos: ácido oleoico ( $CI_{50} = 43,67 \pm 3,34 \mu\text{g/mL}$ ), ácido maslínico ( $CI_{50} = 30,88 \pm 1,33 \mu\text{g/mL}$ ) e oleuropeína ( $CI_{50} = 57,52 \pm 0,203 \mu\text{g/mL}$ ). Observa-se que houve uma diminuição da bioatividade dos compostos puros em relação aos extratos, sugerindo efeito sinérgico entre os compostos. Também nesse estudo, o tempo de incubação foi superior (96 horas).

No estudo de Derda e colaboradores (2016) com extratos de *Artemisia annua*, o extrato MeOH apresentou melhor resultado ( $CI_{50}$  de  $8,1 \text{ mg/mL}$ ) frente a cepa Ac32 *Acanthamoeba* sp e *Acanthamoeba castellanii*. Além disso, foi realizado estudo *in vivo*, em que houve aumento considerável do tempo de vida de ratos infectados (3 a 4 vezes maior). Outros estudos também reportaram atividade amebicida na ordem de  $\text{mg/mL}$  para extratos de própolis (TOPALKARA et al., 2007), espécies de *Teucrium* (TEPE et al., 2011), *Allium* (POLAT et al., 2007), *Peucedanum*

(MALATYALI et al., 2011), *Salvia* (GOZE et al., 2009), entre outras. No entanto, mas sem reportar valores da  $CI_{50}$ .

Tabela 26. Resultados da avaliação da atividade amebicida sobre trofozoítos de *A. castellanii* T4.

	$CI_{50} \pm DP$ (mg/mL)	% morte celular
<b>Extratos</b>		
DJ-I	$2,34 \pm 0,38$	-
<b>Frações</b>		
DJ-I-D	$1,05 \pm 4,21$	-
DJ-I-H	$1,58 \pm 1,16$	-
<b>Compostos</b>		
Dj1 <sup>a</sup>	-	35,0
<b>Controle positivo</b>		
Biguanida 0,02%	-	90,0
Clorexidina 0,02%	-	95,0

\* Os ensaios foram realizados em triplicata (n = 3).

<sup>a</sup> Testado na concentração de 1,05 mg/mL.

#### 4.4.3 Atividade sobre a hemostasia

As atividades anticoagulante e antiagregante plaquetária foram avaliadas para alguns extratos (10), frações (6) e compostos isolados (7), e os resultados preliminares podem ser visualizados na Tabela 27.

O estudo da atividade antiagregante plaquetária pode ser realizado utilizando-se diferentes ativadores (também chamados de agonistas plaquetários), os quais diferem com relação ao sítio de ligação na membrana plaquetária, desencadeando a agregação plaquetária por diferentes vias (CASTRO et al., 2006). Durante este processo de ativação, as plaquetas alteram sua forma, liberam o conteúdo de seus grânulos e formam agregados por meio da adesão gradual umas às outras (GHOSHAL; BHATTACHARYYA, 2014). Os ativadores mais conhecidos são ADP, trombina, epinefrina, fator de ativação plaquetária (PAF), tromboxano e colágeno (KICKLER, 2006). No presente estudo, foram utilizados ADP e epinefrina como ativadores. Ambos estão envolvidos na fase de amplificação do sinal por meio da ligação ao receptor  $P2Y_1$  e  $P2Y_{12}$ , e  $\beta_2$  adrenérgico, respectivamente (GHOSHAL; BHATTACHARYYA, 2014).

Com relação à atividade antiagregante plaquetária, observou-se inibição da agregação plaquetária induzida por epinefrina e ADP para vários extratos, destacando-se os extratos DJ-I, DJ-VII, DP-VI e DP-VII. O extrato DJ-I apresentou o maior percentual de inibição, com apenas  $19,5 \pm$

3,5 % de agregação no modelo utilizando ADP e  $67,0 \pm 2,8$  % de agregação no modelo utilizando epinefrina.

Dessa forma, algumas frações do extrato DJ-I também foram avaliadas, e, diferentemente do observado para o extrato, os resultados mais significativos foram encontrados quando utilizada epinefrina como agonista. Além disso, pode-se notar um padrão de aumento do potencial antiagregante com o aumento da polaridade das frações (com exceção da fração DJ-I-D), destacando-se a fração DJ-I-I, com agregação de  $8,0 \pm 2,0$  % (ADP) e  $9,5 \pm 0,5$  % (epinefrina), seguida da fração DJ-I-D, com agregação de  $11,5 \pm 1,5$  % (epinefrina).

Alguns compostos da fração DJ-I-D foram analisados com relação ao potencial antiagregante e, entre os mesmos, verificou-se que os dissulfetos Dj1 e Dj5 apresentaram melhor perfil antiagregante. No entanto, diferentemente da fração DJ-I-D, observou-se maior atividade quando utilizado como agonista o ADP, com agregação de  $61,5 \pm 0,5$  e  $63,0 \pm 3,0$  %, respectivamente. Outros compostos presentes nesta fração, como o  $\alpha$ -tocoferol (Dj20), já demonstraram potencial antiagregante em estudos *in vitro* e *in vivo*. Este composto é a principal forma da vitamina E no plasma humano, e a diminuição dos seus níveis plasmáticos foi correlacionada com o aumento da agregação plaquetária (CHANG et al., 2000). O seu metabólito,  $\alpha$ -tocoferol quinona (Dj25), isolado a partir das frações reunidas de DJ-I-D e DJ-I-E, também é conhecido pelo seu potencial antitrombótico, apresentando efeitos superiores ao próprio composto de origem (COX et al., 1980).

A fração DJ-I-I, assim como as frações DJ-I-F, DJ-I-G e DJ-I-H, não foi submetida ao fracionamento cromatográfico, no entanto, como já referido anteriormente, foi observada a presença de clorofilas, triglicerídeos e do composto Dj19 (fucosterol), o qual apresentou fraca atividade antiagregante quando utilizado ADP como indutor ( $74,0 \pm 7,0$  % de agregação), e atividade moderada quando utilizada a epinefrina ( $58,0 \pm 2,8$  % de agregação). Com relação às clorofilas, há poucos estudos na literatura referentes à avaliação da atividade antiagregante das mesmas. Lo et al. (2003) demonstraram potencial antiagregante significativo de feofitina *a* (derivado da clorofila *a*) quando utilizado o colesterol como indutor de agregação, porém fraca atividade foi observada quando utilizado ácido araquidônico, fator de ativação plaquetário ou trombina como indutores. Wu et al. (2001) também demonstraram inatividade de outros dois derivados de clorofilas. Dessa forma, acredita-se que compostos

minoritários ainda não identificados possam ser responsáveis pela atividade observada nestas frações, especialmente na fração DJ-I-I.

Com relação à fração DJ-I-E, que apresentou o menor potencial antiagregante, foram isolados apenas os ftalatos Dj12 e Dj14, além do dissulfeto cíclico Dj13, os quais não apresentaram atividade antiagregante significativa. Por meio da análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  desta fração foi possível observar que os dissulfetos lineares estavam presentes, porém em concentrações muito inferiores àsquelas observadas para a fração DJ-I-D.

Embora este seja o primeiro estudo com espécies de *Dictyopteris* analisando suas propriedades antiagregantes, estas já foram avaliadas para outras espécies de algas. Cinco extratos orgânicos de *Dictyota menstrualis* e dois de *Dictyota ciliolata* coletadas em diferentes localidades, como Arquipélago de São Pedro e São Paulo, Armação de Búzios e Angra dos Reis, foram avaliados com relação às suas propriedades antiagregantes. Os extratos foram capazes de reduzir a agregação induzida por ADP em até cerca de 20 % (*Dictyota ciliolata* coletada em Angra dos Reis) utilizando plasma rico em plaquetas de voluntários, porém não apresentaram atividade com a utilização de colágeno como ativador. Já quando foram utilizadas plaquetas humanas lavadas, a porcentagem de inibição foi de até 85 % e 60 % quando utilizados como indutores a trombina e o colágeno, respectivamente, também para a espécie *Dictyota ciliolata* coletada em Angra dos Reis (MOURA et al., 2011b). Posteriormente, três diterpenos foram isolados do extrato de *Dictyota menstrualis*, apresentando também atividade antiagregante (MOURA et al., 2014). Além disso, a atividade antiagregante também foi reportada para um diterpeno do tipo dolastano isolado de *Canistrocarpus cervicornis* (MOURA et al., 2011a).

Já com relação à atividade anticoagulante, avaliada por meio do TP e TTPa, os resultados do extratos não foram promissores. Observou-se, de maneira geral, que não houve aumento significativo no tempo de coagulação para os extratos testados na concentração de 600  $\mu\text{g/mL}$ . Apenas os extratos DJ-II, DJ-IV e DJ-VII apresentam aumento no TTPa. Por conta da fraca atividade, as frações e compostos isolados não foram avaliados neste ensaio.

A atividade anticoagulante já foi relatada para espécies do gênero *Dictyopteris*, especialmente para frações ricas em polissacarídeos sulfatados de *D. delicatula* (COSTA et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2011) e *D. justii* (MELO et al., 2012), apresentando resultados semelhantes aos da heparina, como já mencionado na introdução. Estes compostos já são bastante conhecidos por suas propriedades sobre a coagulação sanguínea,

principalmente aqueles isolados de algas pardas e vermelhas (WIJESEKARA; PANGESTUTI; KIM, 2011). Como os extratos estudados neste trabalho de tese são mais apolares (obtidos em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  2:1), possivelmente compostos mais polares como polissacarídeos não estão presentes.

Tabela 27. Resultados da avaliação das atividades anticoagulante e antiagregante plaquetária.

	Antiagregante plaquetária % de agregação (média $\pm$ DP)		Anticoagulante segundos (média $\pm$ DP)	
	ADP	EPI	TP	TTPa
<b>Extratos (600 <math>\mu\text{g}/\text{mL}</math>)</b>				
DJ-I	19,5 $\pm$ 3,5	67,0 $\pm$ 2,8	13,9 $\pm$ 0,9	34,3 $\pm$ 0,4
DJ-II	73,7 $\pm$ 3,1	96,3 $\pm$ 3,1	14,3 $\pm$ 0,8	43,7 $\pm$ 1,1
DJ-IV	77,0 $\pm$ 5,3	90,5 $\pm$ 7,0	15,8 $\pm$ 0,7	39,9 $\pm$ 2,0
DJ-V	93,3 $\pm$ 7,2	92,0 $\pm$ 4,2	13,7 $\pm$ 1,1	30,5 $\pm$ 1,0
DJ-VI	71,7 $\pm$ 5,0	72,5 $\pm$ 4,8	13,0 $\pm$ 0,9	30,5 $\pm$ 0,6
DJ-VII	56,3 $\pm$ 2,2	57,8 $\pm$ 6,6	16,7 $\pm$ 0,2	37,9 $\pm$ 0,8
DP-II/IV	93,3 $\pm$ 2,5	75,5 $\pm$ 7,8	11,1 $\pm$ 1,2	27,4 $\pm$ 0,1
DP-VI	41,0 $\pm$ 7,8	31,5 $\pm$ 2,1	14,6 $\pm$ 0,0	29,8 $\pm$ 2,0
DP-VII	39,3 $\pm$ 2,1	88,7 $\pm$ 8,7	13,8 $\pm$ 0,4	27,8 $\pm$ 0,2
<b>Frações do extrato DJI</b>				
DJ-I-D (596 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	40,0 $\pm$ 2,0	11,5 $\pm$ 1,5	N.A.	N.A.
DJ-I-E (600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	77,5 $\pm$ 3,5	62,0 $\pm$ 7,0	N.A.	N.A.
DJ-I-F (311 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	43,3 $\pm$ 5,8	48,5 $\pm$ 4,5	N.A.	N.A.
DJ-I-G (602 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	32,0 $\pm$ 3,0	30,5 $\pm$ 2,5	N.A.	N.A.
DJ-I-H (605 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	39,0 $\pm$ 2,0	15,5 $\pm$ 0,5	N.A.	N.A.
DJ-I-I (602 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	8,0 $\pm$ 2,0	9,5 $\pm$ 0,5	N.A.	N.A.
<b>Compostos isolados (100 <math>\mu\text{M}</math>)</b>				
Dj1	61,5 $\pm$ 0,5	76,0 $\pm$ 3,0	12,8 $\pm$ 1,2	29,3 $\pm$ 1,1
Dj5	63,0 $\pm$ 3,0	74,0 $\pm$ 3,0	13,0 $\pm$ 0,7	28,7 $\pm$ 1,1
Dj12	92,7 $\pm$ 4,7	74,8 $\pm$ 6,3	N.A.	N.A.
Dj13	86,3 $\pm$ 3,1	79,0 $\pm$ 4,0	N.A.	N.A.
Dj14	93,3 $\pm$ 5,1	94,3 $\pm$ 4,0	N.A.	N.A.
Dj17	77,5 $\pm$ 4,5	83,4 $\pm$ 6,3	N.A.	N.A.
Dj19	74,0 $\pm$ 7,0	58,0 $\pm$ 2,8	N.A.	N.A.
<b>Controle<sup>a</sup></b>	95,0 $\pm$ 2,7	92,0 $\pm$ 4,0	-	-
<b>Controle<sup>a</sup></b>	-	-	12,8 $\pm$ 0,9	28,6 $\pm$ 0,7

\* Os ensaios foram realizados em triplicata (n = 3). ADP: adenosina 5'-difosfato (6  $\mu\text{M}$ ); EPI: epinefrina (6  $\mu\text{M}$ ); TP: tempo de protrombina; TTPa: tempo de tromboplastina parcial ativada.

<sup>a</sup> DMSO (dimetilsulfóxido 0,6 %).

#### 4.5 TRIAGEM VIRTUAL DE ALVOS MOLECULARES E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA

A triagem virtual realizada por meio da ferramenta SwissTargetPrediction permitiu a identificação de possíveis alvos moleculares para os derivados C<sub>11</sub> contendo enxofre isolados neste trabalho. O composto Dj13 destacou-se por apresentar os maiores valores de probabilidade em diversos alvos moleculares, principalmente enzimas, como prostaglandina G/H sintase 1 e 2, tirosil-DNA-fosfodiesterase 1, butirilcolinesterase e acetilcolinesterase (Figura 180). Prostaglandina G/H sintase 1 e 2 são também conhecidas como ciclooxigenase (COX-1 e 2) e estão relacionadas à produção de prostaglandinas a partir do ácido araquidônico, e, portanto, envolvidas em processos inflamatórios (OKADA et al., 2000). A enzima tirosil-DNA-fosfodiesterase 1 está envolvida na reparação do DNA, hidrolisando a ligação fosfodiéster entre um resíduo de tirosina e o 3'-fosfato do DNA no complexo DNA-TOP1 (topoisomerase I) (HUANG et al., 2011). Já as enzimas butirilcolinesterase (BuChE) e acetilcolinesterase (AChE) são responsáveis pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina nas fendas sinápticas; apesar da grande semelhança, diferenciam-se quanto à distribuição nos tecidos, propriedades cinéticas e especificidade para com os seus substratos. Enquanto a AChE é mais abundante no sistema nervoso central, nos músculo esqueléticos e na membrana dos eritrócitos, a BuChE encontra-se preferencialmente no plasma sanguíneo (ARAÚJO; SANTOS; GONSALVES, 2016).

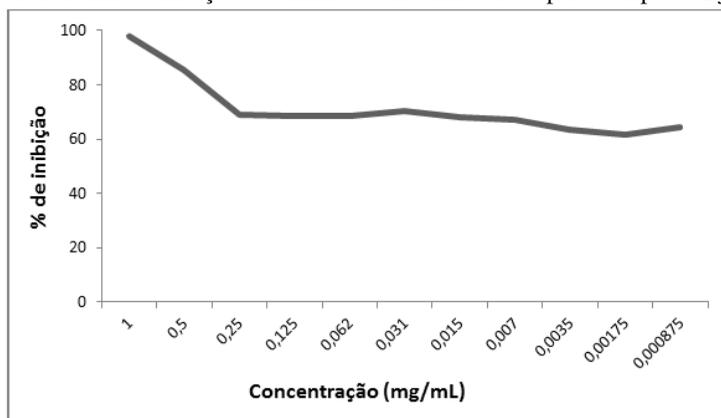
Figura 180. Tabela gerada na triagem de possíveis alvos moleculares para o composto Dj13, com a ferramenta SwissTargetPrediction

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Probability*	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
Prostaglandin G/H synthase 1 (by homology)	PTGS1	P23219	CHEMBL221		328 / 1	Enzyme
Prostaglandin G/H synthase 2	PTGS2	P35354	CHEMBL230		328 / 1	Enzyme
Cholinesterase	BCHE	P06276	CHEMBL1914		152 / 1	Enzyme
Acetylcholinesterase	ACHE	P22303	CHEMBL220		152 / 1	Enzyme
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	TDP1	Q9NUW8	CHEMBL1075138		234 / 2	Enzyme
Microtubule-associated protein tau	MAPT	P10636	CHEMBL1293224		1296 / 1	Unclassified
Complex	SAE1/UBA2	Q9UBE0/Q9UBT2	CHEMBL2095174		1 / 1	Unclassified /Enzyme
Cathepsin B	CTSB	P07858	CHEMBL4072		120 / 1	Cysteine Protease
Glutamate carboxypeptidase 2	FOLH1	Q04609	CHEMBL1892		1 / 1	Metallo Protease
N-acetylated-alpha-linked acidic dipeptidase-like protein (by homology)	NAALADL1	Q9UQQ1			1 / 1	Metallo Protease

\* Os dados selecionados referem-se aos dez primeiros alvos moleculares ranqueados de acordo com a probabilidade.

Com base nos dados obtidos na triagem virtual e considerando os grupos parceiros para realização de ensaios biológicos, optou-se por encaminhar o composto Dj13 para ser testado *in vitro* com relação à sua capacidade de inibir a enzima acetilcolinesterase. O composto foi inicialmente testado na concentração de 1 mg/mL, apresentando 98,07 % de inibição enzimática. Posteriormente, foi realizada uma diluição seriada e os percentuais de inibição foram plotados em um gráfico, conforme apresentado na Figura 181. Pode-se observar que após a primeira e segunda diluições houve uma redução da atividade, porém o composto manteve a atividade após a terceira diluição, com um percentual de inibição na faixa de 65 %, até a concentração de 0,875 µg/mL. Novos ensaios devem ser realizados com vistas à determinação do valor de  $CI_{50}$ , que já se mostra menor que o valor do controle positivo ( $IC_{50} = 2,17 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$ ).

Figura 181. Perfil de inibição da enzima acetilcolinesterase pelo composto Dj13.



Considerando que a inibição da enzima acetilcolinesterase é um mecanismo importante da ação de fármacos utilizados no tratamento da doença de Alzheimer, os resultados preliminares encontrados para o composto Dj13 são bastante relevantes. Dessa forma, também foi realizada uma análise das suas propriedades farmacocinéticas e propriedades “fármaco-similar” por meio da ferramenta SwissADME (DAINA; MICHELIN; ZOETE, 2017). Os resultados indicaram que esta molécula possui alta absorção gastrointestinal, bem como capacidade de permeação na barreira hematoencefálica (BHE), o que é considerada uma característica desejável para fármacos anticolinesterásicos para tratamento de Alzheimer.

Além disso, não há indicativo de inibição das enzimas do citocromo P450 (CYP), com exceção da enzima CYP2C9. O composto Dj13 também atendeu às regras de Lipinski (0 violações), que é um dos filtros mais utilizados na indústria farmacêutica para a seleção de compostos com adequada biodisponibilidade oral (PICCIRILLO; AMARAL, 2018).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos fitoquímicos e biológicos com espécies de algas marinhas provenientes das ilhas oceânicas brasileiras são ainda bastante escassos, especialmente para o gênero *Dictyopteris*, o que motivou o desenvolvimento deste trabalho. Os resultados obtidos nesta tese evidenciam a riqueza de metabólitos e o potencial biológico das espécies *D. jolyana* e *D. plagiogramma*, as quais demonstraram variações inter e intraespecíficas de acordo com o local e período de coleta. Compostos de diferentes classes químicas foram isolados e/ou identificados nos extratos analisados, compreendendo ácidos graxos, esteroides, terpenos, meroditerpenos, derivados de ácido ftálico, e inúmeros compostos derivados de C<sub>11</sub> contendo enxofre.

Muitos dos compostos relatados são relativamente comuns em organismos marinhos, no entanto, alguns parecem restritos ao gênero *Dictyopteris*, como é o caso dos derivados de C<sub>11</sub> contendo enxofre. A partir do fracionamento dos extratos DJ-I e DP-VII foram isolados 12 compostos desta classe, sendo que destes, quatro são inéditos na literatura (Dj7, Dj9, Dj11, e Dj26) e um foi reportado pela primeira vez como produto natural (Dj18). Dois destes compostos (Dj22 e Dj23) ainda necessitam de espectros de massas para confirmação da sua estrutura, uma vez que possivelmente sejam compostos novos. O número de átomos de enxofre na estrutura variou de um até quatro, apresentando-se tanto na forma de cadeias lineares, como em ciclos de seis e sete átomos.

A presença destes metabólitos é interessante do ponto de vista quimiosistemático, uma vez que foram identificados em apenas algumas espécies de *Dictyopteris*. De acordo com a análise filogenética realizada por Bittner e colaboradores (2008), o gênero *Dictyopteris* parece ser polifilético. Oito espécies foram analisadas e separadas em dois *clusters*: o primeiro constituído por *D. undulata*, *D. divaricata* e *D. pacifica*; o segundo formado por *D. delicatula*, *D. prolifera*, *D. latiuscula*, *D. polyodioides* e *D. australis*. Esta distribuição estaria também de acordo com o observado do ponto de vista fitoquímico, uma vez que as espécies *D. undulata* e *D. divaricata* produzem principalmente terpenos quando comparadas às demais espécies, caracterizadas pela presença majoritária de compostos do tipo C<sub>11</sub> e derivados (como aqueles contendo enxofre). Apesar das espécies *D. jolyana* e *D. plagiogramma* não terem sido incluídas neste estudo, considerando os dados de literatura e os obtidos nesta tese, possivelmente estariam relacionadas ao segundo *cluster*.

Embora a função como feromônios sexuais e defesa química dos hidrocarbonetos  $C_{11}$  de algas pardas já tenha sido estudada extensivamente, pouco se sabe sobre a origem e significância ecológica dos derivados  $C_{11}$  contendo enxofre. Neste sentido, estudos de herbivoria realizados por Schnitzler et al. (1998 e 2001) têm sugerido o seu papel de defesa química. Por terem reduzido a herbivoria pela anfípoda *Ampithoe longimana* e não demonstrarem a mesma efetividade contra ouriços-do-mar, tal fato sugere que estes metabólitos possam ser ecologicamente importantes na defesa de gametas, zigotos ou formas juvenis contra pequenos consumidores (SCHNITZLER; BOLAND; HAY, 1998; SCHNITZLER et al., 2001). Estudos com peixes envolvendo os derivados  $C_{11}$  contendo enxofre ainda não foram desenvolvidos, porém permitiriam demonstrar se estes compostos são os responsáveis pela menor preferência de peixes por *Dictyopterus*, como observado em alguns trabalhos (LONGO et al., 2015). Além disso, tais estudos poderiam demonstrar eventual plausibilidade da hipótese levantada quanto à maior pressão de herbivoria como estímulo ambiental para produção de compostos contendo enxofre em *Dictyopterus*.

Por conta da semelhança estrutural, acredita-se que os compostos  $C_{11}$  e os derivados  $C_{11}$  contendo enxofre compartilhem da mesma rota biossintética. Dessa maneira, pequenas modificações na rota metabólica utilizada para produção de feromônios  $C_{11}$  foram capazes de gerar uma nova classe de metabólitos para atuar como defesa química. Algumas propostas sugerem que estes compostos são originados a partir de uma cascata de reações oxidativas de eicosanóides gerados a partir de fosfolípídeos (SCHNITZLER; BOLAND; HAY, 1998; BOLAND, 1995). Neste sentido, a produção de duas moléculas com papéis ecológicos diferentes ou complementares (por ex. feromônios sexuais e defesa química) a partir do mesmo precursor, representa um exemplo de estratégia de minimização de custos (SCHNITZLER; BOLAND; HAY, 1998; NEILSON et al., 2013).

Compostos orgânicos contendo enxofre já foram relatados para diversos organismos marinhos, incluindo alguns metabólitos primários (como os polissacarídeos sulfatados), aminácidos, alcalóides, terpenos e compostos alifáticos, apresentando-se em diversas formas, como sulfatos, sulfetos, sulfônios, sulfóxidos, entre outras (CHRISTOPHERSEN; ANTHONI, 1986). Apesar disso, o número de compostos identificados não é elevado em comparação a outras classes de substâncias, o que pode ser reflexo da exclusividade da produção em certos organismos, como parece ser o caso dos sulfetos obtidos neste trabalho.

Em relação a estes compostos, o primeiro sulfeto proveniente de algas marinhas foi identificado em 1935 na alga vermelha *Polysiphonia fastigiataem* como dimetilsulfeto (HAAS, 1935), composto também presente nos óleos essenciais de espécies de *Dictyopteris*. Verificou-se que a produção deste composto estava associada à injúria, morte ou o contato das algas com o ar atmosférico. Posteriormente, diversos polissulfetos cíclicos foram isolados da alga vermelha *Chondria californica* coletada no México, e associados a forte atividade antibacteriana apresentada pelo seu extrato bruto (WRATTEN; FAULKNER, 1976). A partir daí, seguiram-se os trabalhos realizados por Moore e colaboradores, na década de 70, que evidenciaram a produção de diversos compostos C<sub>11</sub> contendo enxofre em *D. plagiogramma* e *D. australis* coletadas no Havaí (MOORE, 1978). Sulfetos também foram relatados para animais aquáticos, como a poliqueta *Lumbriconereis heteropoda*, conhecida pela produção da nereistoxina, protótipo para a síntese do inseticida Padan (BOORUGU; CHRISPAL, 2012).

Além dos derivados C<sub>11</sub> contendo enxofre, merece destaque a caracterização de derivados de ácido ftálico em todos os extratos. Como já referido ao longo do texto, tais compostos podem ser originários do metabolismo das algas, no entanto, por conta da poluição dos oceanos, acredita-se que estes compostos possam ser provenientes da adsorção de microplásticos à superfície das algas (SUNDBAEK et al., 2018). Tal situação pode ter implicações na sustentabilidade da cadeia alimentar do ambiente aquático e pôr em risco a vida marinha, uma vez que os organismos da fauna podem ingerir estes alimentos contaminados ou fragmentos de plásticos (FOLEY et al., 2018). A possibilidade de caracterização desta situação por meio da química de produtos naturais a transforma em uma ferramenta de diagnóstico, auxiliando a tomada de decisão com vistas à diminuição dos impactos ambientais e ecológicos.

Com relação às atividades biológicas avaliadas por meio de parcerias, os resultados obtidos foram considerados bastante promissores. As atividades citotóxica, amebicida, anticoagulante e antiagregante foram selecionadas com base nos dados de literatura para organismos marinhos, bem como disponibilidade dos grupos parceiros.

A atividade citotóxica é o principal eixo de pesquisa na área de produtos naturais marinhos, onde se verifica o maior número de trabalhos científicos e de fármacos no mercado (RUIZ-TORRES et al., 2017). De maneira geral, apesar da redução da viabilidade celular, os extratos de *D. jolyana* e *D. plagiogramma* não demonstraram grande potencial citotóxico,

o que também foi observado para os compostos analisados. Entretanto, uma vez que cada linhagem celular possui suas particularidades, seria importante também avaliar o potencial destes compostos sobre outros tipos de tumores, como os hematológicos, os quais diferem dos tumores sólidos por apresentarem origens histológicas, características e comportamentos clínicos diferentes (KRUG et al., 2011). Ainda, a baixa toxicidade pode ser considerada um fator importante para outras aplicações dos extratos e compostos.

Considerando as doenças cardiovasculares como principais causas de morte no mundo na atualidade (NAMARA; ALZUBAIDI; JACKSON, 2019), os resultados obtidos nesta tese para a atividade antiagregante são interessantes, notadamente para o extrato DJ-I em relação ao agonista ADP. Entre os compostos avaliados, os dissulfetos Dj1 e Dj5 apresentaram os melhores perfis com ADP. Com vistas a elucidar melhor o mecanismo de ação destes compostos, novos ensaios estão sendo realizados utilizando-se outros agonistas (como ácido araquidônico, colágeno e fator de ativação plaquetária). Estudos preliminares têm demonstrado que o efeito antiagregante está relacionado à inibição da segunda fase de agregação plaquetária, com redução da secreção de grânulos contendo ativadores da agregação, além da redução da expressão de marcadores da ativação plaquetária, como o complexo GPIIb/IIIa e a proteína P-selectina.

Diferentemente do observado para a atividade citotóxica e sobre a hemostasia, os produtos de origem marinha foram pouco investigados com relação ao potencial amebicida. Neste contexto, este é um dos primeiros estudos e os dados obtidos demonstraram redução da viabilidade dos trofozoítos de *A. castellanii* pelo extrato DJ-I e algumas de suas frações. No entanto, o composto investigado (Dj1) não foi capaz de reproduzir estes efeitos, o que indica a existência de outros metabólitos envolvidos nesta atividade. Da mesma forma, a atividade sobre a forma cística também não foi considerada promissora.

Por fim, a triagem virtual foi utilizada neste trabalho como uma estratégia para a identificação de possíveis alvos moleculares dos compostos derivados de C<sub>11</sub> contendo enxofre. Diante da vasta gama de possibilidades de interações com alvos biológicos, por meio da triagem virtual é possível direcionar a avaliação *in vitro* de determinadas atividades biológicas, com uma maior chance de resultado positivo. Dessa forma, os estudos realizados neste trabalho revelaram a enzima acetilcolinesterase como possível alvo para o composto Dj13, o qual, posteriormente, se mostrou mais potente que o controle positivo nos ensaios *in vitro*.

## 6 CONCLUSÕES

- Análise química comparativa dos 19 extratos de *Dictyopteris* (*D. jolyana* e *D. plagiogramma*) evidenciou diferenças importantes entre amostras coletadas em diferentes locais e datas, principalmente com relação aos compostos derivados de  $C_{11}$  contendo enxofre. Alguns fatores, como a pressão por herbivoria (maior em locais rasos ou piscinas fechadas), fenômenos naturais (mar de *Sargassum*) e morfologia da alga (talos mais delicados são menos resistentes) podem ajudar a explicar esta variação.

- O fracionamento cromatográfico do extrato DJ-I (*D. jolyana*, Fernando de Noronha, 2014) levou ao isolamento de 26 substâncias, e 17 tiveram sua estrutura determinada: 12 foram identificadas como compostos derivados de  $C_{11}$  contendo enxofre (Dj1, Dj5, Dj7, Dj9, Dj11, Dj13, Dj16-18, Dj16), além de três tocoferóis (Dj15 =  $\alpha$ -tocoferol, Dj20 =  $\gamma$ -tocoferol e Dj25 =  $\alpha$ -tocoferol quinona), um esteroide (Dj19 = fucosterol); um diterpeno (Dj21 = fitol), e dois ftalatos (Dj12 = ftalato de bis(2-etil-hexila) e Dj14 = ftalato de di-isobutila). Todos estes compostos são novos para a espécie *D. jolyana*; Dj15 foi isolado pela primeira vez no gênero; Dj18 foi relatado pela primeira vez como produto natural; e Dj7, Dj9, Dj11 e Dj26 são inéditos na literatura. Outros dois compostos novos derivados de  $C_{11}$  contendo enxofre (Dj22-23) tiveram suas estruturas parciais propostas e necessitam ainda dos espectros de massas para confirmação.

- O fracionamento cromatográfico do extrato DP-VII (*D. plagiogramma*, Atol das Rocas, 2016) resultou no isolamento de oito substâncias, sendo seis dissulfetos em comum com o extrato DJ-I (Dp2-6, Dp8), além de  $\gamma$ -tocoferol (Dp1) e fucosterol (Dp7). Com exceção de Dp2 e Dp7, os demais metabólitos são novos para a espécie.

- Com relação à atividade citotóxica, os valores de  $CI_{50}$  para os extratos variaram de  $> 100$  (DJ-IV e DJ-VI) até 18,21  $\mu\text{g/mL}$  (DP-VI) utilizando-se a linhagem de células HCT-116, sendo que *D. plagiogramma* apresentou maior potencial citotóxico. Alguns compostos também foram avaliados, inclusive utilizando-se outras linhagens celulares (B16-F10, PC3-M e 293A), sendo que Dj1, Dj5 e Dj14 foram os mais citotóxicos ( $CI_{50}$  variou de 8,22 até 82,04  $\mu\text{g/mL}$ ).

- O extrato DJ-I demonstrou potencial amebicida contra trofozoítos de *Acanthamoeba castellanii* (CI<sub>50</sub> de 2,34 ± 0,38 mg/mL). As frações DJ-I-D e H também foram avaliadas, apresentando resultados de CI<sub>50</sub> de 1,05 e 1,58 mg/mL, respectivamente, mas o composto Dj1 apresentou fraca atividade amebicida, causando menos de 35 % de morte celular.

- Os extratos apresentaram atividade sobre a agregação plaquetária, com percentuais de agregação de 19,5 até 93,3 % (ADP) e 31,5 até 96,3 % (epinefrina). Os resultados mais significativos foram reportados para o extrato DJ-I (19,5 ± 3,5 % para ADP) e DP-VI (31,5 ± 2,1 % para epinefrina). Entre as frações avaliadas, DJ-I-I apresentou o resultado mais promissor, com percentuais de agregação de 8,0 ± 2,0 % (ADP) e 9,5 ± 0,5 % (epinefrina). Entre os compostos, Dj1, Dj5 e Dj19 apresentaram percentuais de agregação de 61,5 ± 0,5 %, 63,0 ± 3,0 % e 74,0 ± 7,0 (ADP), e 76,0 ± 3,0 %, 74,0 ± 3,0 % e 58,0 ± 2,8 (epinefrina), respectivamente. A atividade anticoagulante dos extratos não foi considerada clinicamente significativa.

- A triagem virtual indicou a enzima acetilcolinesterase como possível alvo molecular para o composto Dj13, o qual, posteriormente, se mostrou mais potente (CI<sub>50</sub> < 0,875 µg/mL) que o controle positivo (IC<sub>50</sub> = 2,17 ± 0,04 µg/mL) nos ensaios *in vitro*. Os resultados também indicaram que o composto Dj13 apresenta propriedades farmacocinéticas adequadas e atende às regras de Lipinski (0 violações).

## 7 PERSPECTIVAS

Considerando os resultados obtidos com as diferentes amostras de *Dictyopteris* coletadas nas ilhas oceânicas brasileiras, especialmente os extratos DJ-I e DP-VII, pode-se destacar para a continuidade dos estudos algumas propostas:

- Finalizar a identificação/elucidação estrutural dos compostos Dj2, Dj6, Dj22, Dj23 e Dj24.
- Isolar ou identificar novos metabólitos de extratos e/ou frações consideradas promissoras nos ensaios de citotoxicidade e atividade sobre a hemostasia.
- Encaminhar para avaliação da atividade sobre a hemostasia os compostos C<sub>11</sub> contendo enxofre ainda não testados.
- Avaliar a atividade anti-herbivoria sobre peixes dos compostos C<sub>11</sub> contendo enxofre majoritários.
- Coletar novas amostras de *D. jolyana* e *D. plagiogramma* na Ilha da Trindade, Arquipélago de São Pedro e São Paulo e Atol das Rocas, para novas comparações entre estes locais, priorizando diferentes profundidades e épocas do ano;
- Coletar e analisar quimicamente outras espécies de *Dictyopteris* existentes nas ilhas oceânicas brasileiras, como *D. delicatula*, *D. justii* e *D. jamaicensis*, além de espécimes na costa brasileira, permitindo realizar um estudo comparativo entre estes dois ambientes;
- Coletar amostras de *D. plagiogramma* em piscinas abertas e fechadas no Atol das Rocas, com vistas a determinar a influência da pressão de herbivoria sobre a produção de metabólitos secundários.
- Avaliar a atividade citotóxica dos extratos e compostos isolados sobre outras linhagens celulares, como células de tumores hematológicos;
- Realizar estudos de docagem molecular com o receptor P2Y1 e P2Y12 (receptores do ADP) e os compostos C<sub>11</sub> contendo enxofre.
- Determinar a CI<sub>50</sub> do composto Dj13 em relação à inibição da enzima acetilcolinesterase e realizar o docking molecular para determinação da relação estrutura-atividade.
- Comparar quimicamente os extratos por meio da técnica de *molecular networking*, com vistas a identificar as principais diferenças entre os mesmos, além de possíveis novos metabólitos, os quais poderão ser purificados futuramente.

## REFERÊNCIAS

- ABDUL, Q. A.; CHOI, R. J.; JUNG, H. A.; CHOI, J. S. Health benefit of fucosterol from marine algae: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 6, p. 1856-1866, 2016.
- ABOU ZEID, A. H.; ABOUTABL, E. AL.; SLEEM, A. A.; EL-RAFIE, H. M. Water soluble polysaccharides extracted from *Pterocladia capillacea* and *Dictyopteris membranacea* and their biological activities. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 62-66, 2014.
- ABOUTABL, E. A.; ZEID, A. H. A.; SLEEM, A. A.; RAFI, H. M. Secondary metabolites and certain bioactivities of *Pterocladia capillacea* (S. Gmelin) Bornet and *Dictyopteris membranacea* (Stackhouse) Batters. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 41-48, 2010.
- AKREMI, N.; CAPPOEN, D.; ANTHONISSEN, R.; VERSCHAEVE, L.; BOURAOUI, A. Phytochemical and in vitro antimicrobial and genotoxic activity in the brown algae *Dictyopteris membranacea*. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 308-314, 2017.
- Al-Bari, M. A.; Bhuiyan, M. S.; Flores, M. E.; Petrosyan, P.; Garcia-Varela, M.; Islam, M. A. *Streptomyces bangladeshensis* sp. nov., isolated from soil, which produces bis-(2-ethylhexyl)phthalate. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 1973-1977, 2005.
- ALGHAZEER, R.; WHIDA, F.; ABDUELHRMAN, E.; GAMMOUDI, F.; AZWAI, S. Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya. **Natural Science**, v. 5, p. 7-14, 2013.
- ALGHAZEER, R.; WHIDA, F.; ABDUELHRMAN, E.; GAMMOUDI, F.; NAILI, M. In vitro antibacterial activity of alkaloid extracts from green, red and brown macroalgae from western coast of Libya. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, p. 7086-7091, 2013.
- ALTOÉ, T. P. **Estudo químico-biológico de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Bignoniaceae)**. 2016. 124p. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2014.

AMICO, V.; ORIENTE, G.; PIATTELLI, M.; TRINGALI, C.; FATTORUSSO, E.; MAGNO, S.; MAYOL, L.; SANTACROCE, C.; SICA, D. Amino acids, sugars and sterols of some Mediterranean brown algae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 4, n. 3, p. 143-146, 1976.

ANDO, Y. Essential oil of seaweeds. II. The essential-oil contents of various kinds of seaweeds. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 19, p. 713-716, 1953.

ANGIOLILLO, D. J.; UENO, M.; GOTO, S. Basic principles of platelet biology and clinical implications. **Official Journal of the Japanese Circulation Society**, v. 74, n. 4, p. 597-607, 2010.

AOUN, Z. B.; SAID, R. B.; FARHAT, F. Anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial activities of aqueous and organic extracts from *Dictyopteris membranacea*. **Botanica Marina**, v. 53, n. 3, p. 259-264, 2010.

ARAÚJO, C. R. M.; SANTOS, V. L. A.; GONSALVES, A. A. Acetilcolinesterase - AChE: uma enzima de interesse farmacológico. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1818-1834, 2016.

ARE, C.; CANIGLIA, A.; MALIK, M.; SMITH, L.; CUMMINGS, C.; LECOQ, C.; BERMAN, R.; AUDISIO, R.; WYLD, L. Global variations in the level of cancer-related research activity and correlation to cancer-specific mortality: proposal for a global curriculum. **European Journal of Surgical Oncology**, v. 44, p. 43-52, 2018.

ATTA-UR-RAHMAN; IQBAL CHOUDHARY, M.; SAFDAR HAYAT; MAJEED KHAN, A.; AHMAD, A.; MALIK, S. Spatozoate and varninasterol from the brown alga *Spatoglossum variabile*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 3, p. 495-499, 1999.

AYRES, M. C. C.; CHAVES, M. H.; RINALDO, D.; VILEGAS, W.; VIEIRA JÚNIOR, G. M. Constituintes químicos e atividade antioxidante de extratos das folhas de *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1509-1512, 2009.

BAKER, J. K.; MYERS, C. W. One-dimensional and two-dimensional <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-nuclear magnetic resonance (NMR) analysis of vitamin E raw materials or analytical reference standards. **Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 6, p. 763-770, 1991.

BAKUS, G. J.; KAWAGUCHI, M. Toxins from marine organisms: studies on antifouling. In: BOLIS, L.; ZADUNAISKY, J.; GILLES, R. (eds.).

**Toxins, drugs, and pollutants in marine animals.** Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 1984. 193 p.

BALBOA, E. M.; CONDE, E.; MOURE, A.; FALQUÉ, E.; DOMÍNGUEZ, H. *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. **Food Chemistry**, v. 13, p. 1764-1785, 2013.

BALLANTINE, D. L.; GERWICK, W. H.; VELEZ, S. M.; ALEXANDER E.; GUEVARA, P. Antibiotic activity of lipid-soluble extracts from Caribbean marine algae. **Hydrobiologia**, v. 151-152, p. 463-469, 1987.

BALLESTEROS, E.; MARTÍN, D.; URIZ, M. J. Biological activity of extracts from some mediterranean macrophytes. **Botanica Marina**, v. 35, n. 6, p. 481-485, 1992.

BARROS, C. S.; TEIXEIRA, V. L.; PAIXÃO, I. C. N. P. Seaweeds with anti-herpes simplex virus type 1 activity. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 4, p. 1623-1637, 2015.

BERLINCK, R. G. S.; HAJDU, E.; ROCHA, R. M.; OLIVEIRA, J. H. H. L.; HERNÁNDEZ, I. L. C.; SELEGHIM, M. H. R.; GRANATO, A. C.; ALMEIDA, É. V. R.; NUÑEZ, C. V.; MURICY, G.; PEIXINHO, S.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; CAVALCANTI, B. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; THIEMANN, O.; SILVA, M.; SOUZA, A. O.; SILVA, C. L.; MINARINI, P. R. R. Challenges and rewards of research in marine natural products chemistry in Brazil. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 3, p. 510-522, 2004.

BERTEAU, O.; MULLOY, B. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. **Glycobiology**, v. 13, n. 6, p. 29-40, 2003.

BHATTACHARYA, P.; LIN, S.; TURNER, J. P.; KE, P. C. Physical adsorption of charged plastic nanoparticles affects algal photosynthesis. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 39, p. 16556-16561, 2010.

BIANCO, E. M.; OLIVEIRA, S. Q.; RIGOTTO, C.; TONINI, M. L.; GUIMARÃES, T. R.; BITTENCOURT, F.; GOUVÊA, L. P.; ARESI, C.; ALMEIDA, M. T. R.; MORITZ, M. I. G.; MARTIN, C. D. L.;

SCHERNER, F.; CARRARO, J. L.; HORTA, P. H.; REGINATTO, F. H.; STEINDEL, M.; SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. Anti-infective potential of marine invertebrates and seaweeds from the Brazilian Coast. **Molecules**, v. 18, n. 5, p. 5761-5778, 2013.

BIANCO, E. M.; PIRES, L.; SANTOS, G. K. N.; DUTRA, K. A.; REIS, T. N. V.; VASCONCELOS, E. R. T. P. P.; COCENTINO, A. L. M.; NAVARRO, D. M. A. F. Larvicidal activity of seaweeds from northeastern Brazil and of a halogenated sesquiterpene against the dengue mosquito (*Aedes aegypti*). **Industrial Crops and Products**, v. 43, n. 5, p. 270-275, 2013.

BITOU, N.; NINOMIYA, M.; TSUJITA, T.; OKUDA, H. Screening of lipase inhibitors from marine algae. **Lipids**, v. 34, n. 5, p. 441-445, 1999.

BITTNET, L.; PAYRI, C. E.; COULOUX, A.; CRUAUD, C.; REVIERS, B. DE; ROUSSEAU, F. Molecular phylogeny of the Dictyotales and their position within the Phaeophyceae, based on nuclear, plastid and mitochondrial DNA sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 49, p. 211-226, 2008.

BLUNT, J. W.; COPP, B. R.; KEYZERS, R. A.; MUNRO, M. H.; PRINSEP, M. R. Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 32, n. 2, p. 116-211, 2015.

BLUNT, J. W.; COPP, B. R.; KEYZERS, R. A.; MUNRO, M. H.; PRINSEP, M. R. Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 34, n. 3, p. 235-294, 2017.

BOLAND, W. The chemistry of gamete attraction: chemical structures, biosynthesis, and (a)biotic degradation of algal pheromones. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, p. 37-43, 1995.

BOLAND, W.; MÜLLER, D. G. On the odor of the mediterranean seaweed *Dictyopteris membranacea*; new C<sub>11</sub> hydrocarbons from marine brown algae - III. **Tetrahedron Letters**, v. 28, n. 3, p. 307-310, 1987.

BOORUGU, H. K.; CHRISPAL, A. Cartap hydrochloride poisoning: A clinical experience. **Indian Journal of Critical Care Medicine**, v. 16, n. 1, p. 58-59, 2012.

BORGES, P. A. V.; AZEVEDO, E. B.; BORBA, A. DINIS, F. O.; GABRIEL, R.; SILVA, E. Ilhas oceânicas. In: PEREIRA, H. M.; DOMINGOS, T.; VICENTE, L.; PROENÇA, V. (eds.). **Ecosistemas e**

**bem-estar humano:** avaliação para Portugal do Millennium Ecosystem Assessment. Lisboa: Escolar Editora, 2009. 768 p.

BORN, G. V.; CROSS, M. J. Aggregation of blood platelets. **Journal of Physiology**, v. 168, p. 178-195, 1963.

BRIGGER, I.; DUBERNET, C.; COUVREUR, P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 24-36, 2012.

BURGOS, D. C.; PEREIRA, S. M. B.; BANDEIRA-PEDROSA, M. E. Levantamento florístico das Rodofíceas do Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP) – Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 4, p. 1110-1118, 2009.

BURKHOLDER, P. R.; BURKHOLDER, L. M.; ALMODÓVAR, L. R. Antibiotic activity of some marine algae of Puerto Rico. **Botanica Marina**, v. II, 1960, p. 149-156.

BYJU, K.; ANURADHA, V.; ROSMINE, E.; KUMAR, N. C.; NAIR, S. M. Chemical characterization of the lipophilic extract of *Hydrilla verticillata*: a widely spread aquatic weed. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, v. 22, n. 3, p. 304-311, 2012.

CASTRO, B. M.; BRANDINI, F. P.; DOTTORI, M.; FORTES, J. F. A Amazônia Azul: recursos e preservação. **Revista USP**, n. 113, p. 7-26, 2017.

CASTRO, H. C.; FERREIRA, B. L. A.; NAGASHIMA, T.; SCHUELER, A.; RUEFF, C.; CAMISASCA, D.; MOREIRA, G.; SCOVINO, G.; BORGES, G.; LEAL, M.; FILGUEIRA, M.; PASCHOAL, P.; BERNARDO, V.; BOURGUINHON, S.; RODRIGUES, C. R.; SANTOS, D. O. Plaquetas: ainda um alvo terapêutico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, n. 5, p. 321-332, 2006.

CERETO-MASSAGUÉ, A.; OJEDA, M. J.; VALLS, C.; MULERO, M.; GARCIA-VALLVÉ, S.; PUJADAS, G. Molecular fingerprint similarity search in virtual screening. **Methods**, v. 71, n. 1, p. 58-63, 2015.

CETRULO, G. L.; HAY, M. E. Activated chemical defenses in tropical versus temperate seaweeds. **Marine Ecology Progress Series**, v. 207, p. 243-253, 2000.

CHANG, S.; LIN, J.; CHEN, H. Alpha-tocopherol downregulates the expression of GPIIb promoter in HEL cells. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, n. 2, p. 202–207, 2000.

CHEN, C. Y. Biosynthesis of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and di-n-butyl phthalate (DBP) from red alga. **Water Research**, v. 38, p. 1014-1018, 2004.

CHIBOUB, O.; KTARI, L.; SIFAONI, I.; LÓPEZ-ARENCIBIA, A.; REYES-BATLLE, M.; MEJRI, M.; VALLADARES, B.; ABDERRABBA, M.; PIÑERO, J. E.; LORENZO-MORALES, J. In vitro amoebicidal and antioxidant activities of some Tunisian seaweeds. **Experimental Parasitology**, 2017: no prelo. DOI: 10.1016/J.exppara.2017.10.012.

CHIEB I.; RIADI H.; MARTINEZ-LOPEZ J.; DOMINGUEZ S. J. F.; GOMEZ V. J. A.; BOUZIANE H.; KADIRI, M. Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, p. 1258-1262, 2009.

CHIN, Y.; BALUNA, M. J.; CHAI, H. B.; KINGHORN, A. D. Drug discovery from natural sources. **The AAPS Journal**, v. 8, n. 2, p. E239-E253, 2006.

CHRISTOPHERSEN, C.; ANTHONI, U. Organic sulfur compounds from marine organisms. **Sulfur Reports**, v. 4, n. 9, p. 365-442, 1986.

CIMINO, G.; STEFANO, S.; FENICAL, W.; MINALE, L.; SIMS, J. J. Zonarioic acid from the brown seaweed *Dictyopteris undulata* (= *zonarioides*). **Experientia**, v. 31, n. 11, p. 1250-1251, 1975.

CLAUDINO-SALES, V. Brazilian Atlantic Islands: Fernando de Noronha and Atol das Rocas, Brazil. **Coastal Research Library**, 217–223, 2018.

CORREIA-DA-SILVA, M.; SOUSA, E.; DUARTE, B.; MARQUES, F.; CUNHA-RIBEIRO, L. C.; PINTO, M. M. M. Dual anticoagulant/antiplatelet persulfated small molecules. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 6, p. 2347-2358, 2011.

COSTA, L. S.; FIDELIS, G. P.; CORDEIRO, S. L.; OLIVEIRA, R. M.; SABRY, D. A.; CÂMARA, R. B. G.; NOBRE, L. T. D. B.; COSTA, M. S. S. P.; ALMEIDA-LIMA, J.; FARIAS, E. H. C.; LEITE, E. L.; ROCHA, H. A. O. Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 64, n. 1, p. 21-28, 2010.

COSTA-LOTUFO, L. V.; WILKE, D. V.; JIMENEZ, P. C.; EPIFANIO, R. A. Organismos marinhos como fonte de novos fármacos: histórico e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 703-716, 2009.

COX, A. C.; RAO, G. H. R.; GERRARD, J. M.; WHITE, J. G. The influence of vitamin E quinone on platelet structure, function, and biochemistry. **Blood**, v. 55, p. 907-914, 1980.

COX, A. C.; RAO, G. H. R.; GERRARD, J. M.; WHITE, J. G. The influence of vitamin E quinone on platelet structure, function, and biochemistry. **Blood**, v. 55, n. 6, p. 906-914, 1980.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, n. 6, p. 3670-3695, 2013.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-13, 2017.

DAVE, M.; KUSUMI, T.; ISHITSUKA, M.; IWASHITA, T.; KAKISAWA, H. A piscicidal chromanol and a chromenol from the brown alga *Dictyopteris undulata*. **Heterocycles**, v. 22, p. 2301-2307, 1984.

DE CLERCK, O.; BOGAERT, K. A.; LELIAERT, F. Diversity and evolution of algae: primary endosymbiosis. In: Piganeau, G. (ed.). **Genomic insights into the biology of algae**. 1 ed. London: Academic Press, 2012, 520 p.

DELGADO-CALLE, J.; KURIHARA, N.; ATKINSON, E. G.; NELSON, J.; MIYAGAWA, K.; GALMARINI, C. M.; ROODMAN, G. D.; BELLIDO, T. Aplidin (plitidepsin) is a novel anti-myeloma agent with potent anti-resorptive activity mediated by direct effects on osteoclasts. **Oncotarget**, v. 10, n. 28, p. 2708-2721.

DERDA, M.; HADÁS, E.; CHOLEWINSKI, M.; SKRZYPEZAK, L.; GRZONDZIEL, A.; WOJTKOWIAK-GIERA, A. *Artemisia annua* L. as a plant with potential use in the treatment of acanthamoebiasis. **Parasitology Research**, v. 115, p. 1635-1639, 2016.

DERDA, M.; HADAS, E.; THIEM, B. Plant extracts as natural amoebicidal agents. **Parasitology Research**, v. 104, n. 3, p. 705-708, 2009.

DIETRICH, M.; TRABER, M. G.; JACQUES, P. F.; CROSS, C. E.; HU, Y.; BLOCK, G. Does tocopherol play a role in the primary prevention of heart disease and cancer? A Review. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 25, n. 4, p. 292-299, 2006.

DIMOU, M.; IOANNOU, E.; DASKALAKI, M.G.; TZIVELEKA, L. A.; KAMPRANIS, S. C.; ROUSSIS, V. Disulfides with anti-inflammatory activity from the brown alga *Dictyopteris membranacea*. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, 584-589, 2016.

DOWN, P.; ZHENG, Z. B. On the mechanism of the anticlotting action of vitamin E quinone. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 92, p. 8171-8175, 1995.

EICHENBERGER, W.; ARAKI, S.; MULLER, D. G. Betaine lipids and phospholipids in brown algae. **Phytochemistry**, v. 34, n. 5, p. 1323-1333, 1993.

ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. **Brown algae**. 2014. Disponível em: <<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/81647/brown-algae>> Acesso em: 22 junho 2015.

FELÍCIO R.; OLIVEIRA, A. L. L.; DEBONSI, H. M. Bioprospecção a partir dos oceanos: conectando a descoberta de novos fármacos aos produtos naturais marinhos. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 3, p. 39-42, 2012.

FENG, M.; WANG, T.; LIU, A.; LI, J.; YAO, L.; WANG, B.; GUO, Y.; MAO, S. PTP1B inhibitory and cytotoxic C-24 epimers of  $\Delta^{28}$ -24-hydroxy stigmastane-type steroids from the brown alga *Dictyopteris undulata* Holmes. **Phytochemistry**, v. 146, p. 25-35, 2018.

FENICAL, W. Marine Pharmaceuticals: past, present and future. **Oceanography**, v. 19, n. 2, p. 110-119, 2006.

FENICAL, W.; McCONNELL, O. Chromazonarol and isochromazonarol, new chromanols from the brown seaweed *Dictyopteris undulata* (*zonarioides*). **Experientia**, v. 31, n. 9, p. 1004-1005, 1975.

FENICAL, W.; SIMS, J. J. Zonarol and isozonarol, fungitoxic hydroquinones from the brown seaweed *Dictyopteris zonarioides*. **Journal of Natural Products**, v. 38, n. 13, p. 2383-2386, 1973.

FENICAL, W.; SIMS, J. J.; WING, R. M.; RADLICK, P. C. Zonarene, a sesquiterpene from the brown seaweed *Dictyopteris zonarioides*.

**Phytochemistry**, v. 11, n. 3, p. 1161-1163, 1972.

FERREIRA, R. S.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Integração das técnicas de triagem virtual e triagem biológica automatizada em alta escala: oportunidades e desafios em P&D de fármacos. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1770-1778, 2011.

FERREIRA, S. S.; TURATTI, I. C. C.; LOPES, N. P.; GUARATINI, T.; COLEPICOLA, P.; OLIVEIRA FILHO, E. C.; GARLA, R. C. Apolar compounds in seaweeds from Fernando de Noronha Archipelago (Northeastern Coast of Brazil). **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2012, p. 1-5, 2012.

FERREIRA, S. S.; TURATTI, I. C. C.; LOPES, N. P.; GUARATINI, T.; COLEPICOLA, P.; OLIVEIRA FILHO, E. C.; GARLA, R. C. Apolar compounds in seaweeds from Fernando de Noronha Archipelago (Northeastern Coast of Brazil). **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 1-5, 2012.

FLEURY, B. G., TEIXEIRA, V. L., KELECOM, A. Chemotaxonomy of Dictyotales (Phaeophyta). 3. The *Dictyopteris* and *Taonia* groups. In: IV REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FICOLOGIA, 1989. **Anais...** Florianópolis: INSULA, 1989. p. 271-288.

FLEURY, B. G.; KELECOM, A.; PEREIRA, R. C.; TEIXEIRA, V. L. Polyphenols, terpenes and sterols in Brazilian Dictyotales and Fucales (Phaeophyta). **Botânica Marina**, v. 37, n. 5, p. 457-462, 1994.

FLEURY, B. G.; PEREIRA, M. V. G.; SILVA, J. R. P.; KAISIN, M., TEIXEIRA, V. L., KELECOM, A. Sterols from Brazilian marine brown algae. **Phytochemistry**, v. 37, n. 5, p. 1447-1449, 1994.

FLEURY, B. G.; PITOMBO, L. F.; TEIXEIRA, V. L.; KELECOM, A. Os esteroides das algas pardas marinhas (classe Phaeophyceae). **Química Nova**, v. 19, n. 1, p. 37-42, 1996.

FLOETER, S. R.; GUIMARAES, R. Z.; ROCHA, L. A.; FERREIRA, C. E. L.; RANGEL, C. A.; GASPARINI, J. L. Geographic variation in reef-fish assemblages along the Brazilian coast. **Global Ecology and Biogeography**, v. 10, n. 4, p. 423-431, 2001.

FLOETER, S. R.; ROCHA, L. A.; ROBERTSON, D. R.; JOYEUX, J. C.; SMITH-VANIZ, W. F.; WIRTZ, P.; EDWARDS, A. J.; BARREIROS, J. P.; FERREIRA, C. EL. L.; GASPARINI, J. L.; BRITO, A.; FALCÓN, J. M.; BOWEN, B. W.; BERNARDI, G. Atlantic reef fish biogeography and evolution. **Journal of Biogeography**, v. 35, n. 1, p. 22-47, 2008.

FOLEY, C. J.; FEINER, Z. S.; MALINICH, T. D.; HOOK, T O. A meta-analysis of the effects of exposure to microplastics on fish and aquatic invertebrates. **Science of the Total Environment**, v. 631-632, p. 550-559, 2018.

FUJIMURA, T.; KAWAI, T.; KAJIWARA, T.; ISHIDA, Y. Volatile components in protoplasts isolated from the marine brown alga *Dictyopteris prolifera* (Dictyotales). **Plant Tissue Culture Letters**, v. 11, n. 1, p. 34-39, 1994.

GARCÍA-DAVIS, S.; SIFAOU, I.; REYES-BATLLE, M.; VIVEROS-VALDEZ, E.; PIÑERO, J. E.; LORENZO-MORALES, J.; FERNÁNDEZ, J. J.; DÍAZ-MARRERO, A. R. Anti-Acanthamoeba activity of brominated sesquiterpenes from *Laurencia johnstonii*. **Marine Drugs**, v. 16, p. 1-12, 2018.

GARG, B.; BISHT, T.; LING, Y. Sulfonated graphene as highly efficient and reusable acid carbocatalyst for the synthesis of ester plasticizers. **RSC Advances**, v. 4, n. 100, p. 57297-57307, 2014

GEZGIN, T.; GÜVEN, K. C.; AKÇIN, G. Phthalate esters in marine algae. **Turkish Journal of Maritime and Marine Sciences**, v. 7. p. 119-130, 2001.

GFELLER, D.; GROSDIDIER, A; WIRTH, M.; DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. **Nucleic Acids Research**, v. 42, p. W32-W38, 2014.

GHOSHAL, K.; BHATTACHARYYA, M. Overview of platelet physiology: its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. **Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-16, 2014.

GONZÁLEZ DEL VAL, A.; PLATAS, G.; BASILIO, A.; CABELLO, A.; GORROCHATEGUI, J.; SUAY, I.; VICENTE, F.; PORTILLO, E.; JIMÉNEZ DEL RÍO, M.; REINA, G. G.; PELÁEZ, F. Screening of antimicrobial activities in red, green, and brown macroalgae from Gran

Canaria (Canary Islands Spain). **International Microbiology**, v. 4, p. 35-40, 2001.

GOSCH, B. J.; PAUL N. A.; NYS, R.; MAGNUSSON, M. Spatial, seasonal, and within-plant variation in total fatty acid content and composition in the brown seaweeds *Dictyota bartayresii* and *Dictyopteris australis* (Dictyotales, Phaeophyceae). **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 4, p. 1607–1622, 2015.

GOZE, I.; ALIM, A.; DAG, S.; TEPE, B.; POLAT, Z. A. In vitro amoebicidal activity of *Salvia staminea* and *Salvia caespitosa* on *Acanthamoeba castellanii* and their cytotoxic potentials on corneal cells. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 25, n. 4, p. 293-298, 2009.

GRESSLER, V.; FUJII, M.T.; YOKOYA, N.S.; COLEPICOLO, P.; PINTO, E. Identificação de ftalatos naturais em espécies de algas vermelhas marinhas coletadas no estado do Espírito Santo, Brasil. In: **33ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia, 2010.

GRILO, E. C.; COSTA, P. N.; GURGEL, C. S. S.; BESERRA, A. F. L.; ALMEIDA, F. N. S.; DIMENSTEIN, R. Alpha-tocopherol and gamma-tocopherol concentration in vegetable oils. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 2, p. 379-385, 2014.

GUIRY, M.D., GUIRY, G.M. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland. Disponível em: <<http://www.algaebase.org>> Acesso em: 15 out. 2017.

GUTBROD, K.; ROMER, J.; DÖRMANN, P. Phytol metabolism in plants. **Progress in Lipid Research**, v. 74, p. 1-17, 2019.

GUVEN, K. C.; KIZIL, Z. Studies on *Dictyopteris membranacea* (Stachh.) Batt. **Plant Biochemistry**, v. 25, p. 71-73, 1983.

HAAS, P. The liberation of methyl sulfide in seaweed. **Biochemical Journal**, v. 29, p. 1297-1299, 1935.

HAM, Y. M.; KIM, K.; LEE, W. J.; LEE, N. H.; HYUN, C. Chemical constituents from *Sargassum micracanthum* and antioxidant activity. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 6, n. 2, p. 147-151, 2010.

HASSANPOUR, S. H.; DEGHANI, M. Review of cancer from perspective of molecular. **Journal of Cancer Research and Practice**, v. 4, n. 4, p. 127-129, 2017.

HATTAB, M. E.; CULIOLI, G. ORTALO-MAGNÉ, A.; PIOVETTI, L.; CHITOUR, S. E. Isolation of the volatile compounds from the brown alga *Dictyopteria membranacea* by focused microwave-assisted hydrodistillation. **Journal of Essential Oil Research**, v. 14, n. 6, p. 422-424, 2002.

HATTAB, M. E.; EASA, H. S. S. A.; PIOVETTI, A. T. L.; KORNPBST, J. Volatile components of the Phaeophyceae *Hormophysa cuneiformes* growing along Qatar coasts. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, p. 37-39, 2007.

HATTAB, M.; CULIOLI, G.; PIOVETTI, L.; CHITOUR, S. E.; VALLS, R. Comparison of various extraction methods for identification and determination of volatile metabolites from brown alga *Dictyopteria membranacea*. **Journal of Chromatography A**, v. 1143, n. 1-2, p. 1-7, 2007.

HAY, M. E. The ecology and evolution of seaweed-herbivore interactions on coral reefs. **Coral Reefs**, v. 16, p. 67-76, 1997.

HAY, M. E.; DUFFY, J. E.; FENICAL, W.; GUSTAÍSON, K. Chemical defense in the seaweed *Dictyopteria delicatula*: differential effects against reef fishes and amphipods. **Marine Ecology - Progress Series**, v. 48, p. 185-192, 1988.

HAY, M. E.; PIEL, J.; BOLAND, W.; SCHNITZLER, I. Seaweed sex pheromones and their degradation products frequently suppress amphipod feeding but rarely suppress sea urchin feeding. **Chemoecology**, v. 8, n. 2, p. 91-98, 1998.

HAY, M. E.; RENAUD, P. E.; FENICAL, W. Large mobile versus small sedentary herbivores and their resistance to seaweed chemical defenses. **Oecologia**, v. 75, p. 246-252, 1988.

HELLIO, C.; THOMAS-GUYON, H.; CULIOLI, G.; PIOVETTI, L.; BOURGOUGNON, N.; LE GAL, Y. Marine antifoulants from *Bifurcaria bifurcata* (Phaeophyceae, Cystoseiraceae) and other brown macroalgae. **Biofouling**, v. 17, n. 3, p. 189-201, 2001.

HEREDERO-BERMEJO, I.; SÁNCHEZ-NIEVES, J.; SOLIVERI, J.; GÓMEZ, R.; MATA, F. J.; COPA-PATIÑO, J. L.; PÉREZ-SERRANO, J. *In vitro* anti-Acanthamoeba synergistic effect of chlorhexidine and cationic carbosilane dendrimers against both trophozoite and cyst forms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 509, p. 1-7, 2016.

HO, J.; LEE, D.; LEE, J.; LEE, D.; LEE, Y.; KIM, S.; KIM, S.; BAEK, N. Acyclic diterpenoids from the leaves of *Capsicum annuum*. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 52, n. 2, p. 128-132, 2009.

HOFMANN, M.; EICHENBERGER, W. Lipid and fatty acid composition of the marine brown alga *Dictyopteris membranacea*. **Plant and Cell Physiology**, v. 38, n. 9, p. 1046-1052, 1997.

HOFMANN, M.; EICHENBERGER, W. Radiolabelling studies on the lipid metabolism in the marine brown alga *Dictyopteris membranacea*. **Plant and Cell Physiology**, v. 39, n. 5, p. 508-515, 1998.

HOLDT, S. L.; KRAAN, S. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 543-597, 2011.

HORIKAWA, M.; NORO, T.; KAMEI, Y. *In vitro* anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* activity found in extracts of marine algae indigenous to the coastline of Japan. **The Journal of Antibiotics**, v. 52, n. 2, p. 186-189, 1999.

HUANG, S. N.; POMMIER, Y.; MARCHAND, C. Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 1 (Tdp1) inhibitors. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 21, n. 9, p. 1285-1292, 2011.

HUTSON, K. S.; MATA, L.; PAUL, N. A.; NYS, R. Seaweed extracts as a natural control against the monogenean ectoparasite, *Neobenedenia* sp., infecting farmed barramundi (*Lates calcarifer*). **International Journal for Parasitology**, v. 42, n. 13-14, p. 1135-1141, 2012.

HWANG, S. H.; JANG, J. M.; LIM, S. S. Isolation of fucosterol from *Pelvetia siliquosa* by high-speed countercurrent chromatography. **Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 15, n. 3, p. 191-195, 2012.

IKEKAWA, N.; MORISAKI, N.; TSUDA, K.; YOSHIDA, T. Sterol composition in some green algae and brown algae. **Steroids**, v. 12, n. 1, p. 41-48, 1968.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. **O que é o câncer?** Disponível em: [http://www.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=322](http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322). Acesso em: 18 de out. 2017.

IRIE, T.; YAMAMOTO, K.; MASAMUNE, T. Sesquiterpenes from *Dictyopteris divaricata*. I. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 37, n. 7, p. 1053-1055, 1964.

ISHIBASHI, F.; SATO, S.; SAKAI, K.; HIRAO, S.; KUWANO, K. Algicidal sesquiterpene hydroquinones from the brown alga *Dictyopteris undulata*. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 77, n. 5, p. 1120-1122, 2013.

ISLAM, M. T.; ALENCAR, M. V. O. B.; MACHADO, K. C.; MACHADO, K. C.; MELO-CAVALCANTE, A. A. C.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Phytol in a pharma-medico-stance. **Chemico-Biological Interactions**, v. 240, p. 60-73, 2015.

ISLAM, M. T.; ALI, E. S.; UDDIN, S. J.; SHAW, S.; ISLAM, M. A.; AHMED, M. I.; SHILL, M. C.; KARMAKAR, U. K.; YARLA, N. S.; KHAN, I. N.; BILLAH, M. M.; PIECZYNSKA, M. D.; ZENGIN, G.; MALAINER, C.; NICOLETTI, F.; GULEI, D.; BERINDAN-NEAGOE, I.; APOSTOLOV, A.; BANACH, M.; YEUNG, A. W. K.; EL-DEMERDASH, A.; XIAO, J.; DEY, P.; YELE, S.; JOZWIK, A.; STRZALKOWSKA, N.; MARCHEWKA, J.; RENGASAMY, K. R. R.; HORBANCZUK, J.; KAMAL, M. A.; MUBARAK, M. S.; MISHRA, S. K.; SHILPI, J. A.; ATANASOV, A. G. Phytol: a review of biomedical activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 121, p. 82-94, 2018.

IVAR DO SUL, J. A.; COSTA, M. F.; FILLMANN G. Microplastics in the pelagic environment around oceanic islands of the Western Tropical Atlantic Ocean. **Water Air Soil Pollut**, v. 225, n. 2004, p. 1-13, 2014.

IVAR DO SUL; J. A.; SPENGLER, A.; COSTA, M. F. Here, there and everywhere. Small plastic fragments and pellets on beaches of Fernando de Noronha (Equatorial Western Atlantic). **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, n. 8, p. 1229-1244, 2009.

JANG, K.; LEE, J. Investigation of antibacterial activity against foodborne pathogens among Korean domestic algae. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v. 7, p. 490-495, 2015.

JEONG, S. Y.; QIAN, Z.; JIN, Y. J.; KIM, G. O.; YUN, P. Y.; CHO, T. O. Investigation of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of ethanol extracts from 19 species of marine macroalgae in Korea. **Natural Product Sciences**, v. 18, p. 130-136, 2012.

JI, N. Y.; SONG, Y. P.; MIAO, F. P.; LIANG, X. R. Three cadinane derivatives from the marine brown alga *Dictyopteris divaricata*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 54, n. 1, p. 88–90, 2016.

JI, N. Y.; WEN, W.; LI, X.; XUE, Q.; XIAO, H.; WANG, B. Brominated selinane sesquiterpenes from the marine brown alga *Dictyopteris divaricata*. **Marine Drugs**, v. 7, n. 3, p. 355-360, 2009.

JIMÉNEZ, C. Marine natural products in medicinal chemistry. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 9, p. 959-961, 2018.

JOLY, C. A.; HADDAD, C.; F. B.; VERDADE, L. M.; OLIVEIRA, M. C.; BOLZANI, V. S.; BERLINCK, R. G. S. Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. **Revista USP**, n. 89, p. 114-133, 2011.

JOSHI BIPIN, C.; KAZAOKA, M.; TRISCHMAN JACQUELINE, A. New sesquiterpene hydroquinones from marine brown alga *Dictyopteris undulata*. **Research Journal of Chemical Sciences**, v. 2, n. 9, p. 9-13, 2012.

KAJIWARA, T.; AKAKABE, Y.; MATSUI, K.; KODAMA, K.; KOGA, H.; NAGAKURA, T. (+)-(3S, 4S)-3-butyl-4-vinylcyclopentene in brown algae of the genus *Dictyopteris*. **Phytochemistry**, v. 45, n. 3, p. 529-532, 1997.

KAJIWARA, T.; HATANAKA, A.; TANAKA Y.; KAWAU T.; ISHIHARA, M.; TSUNEYA T.; FUJIMURA T. Volatile constituents from marine brown algae of japanese *Dictyopteris*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 2, p. 636-639, 1989.

KAJIWARA, T.; KAZUYA, K.; HATANAKA A. Isolation of (S)-1,cis-5-undecadien-3-ol, a possible precursor of male-gamete attractants from *Dictyopteris undulata*. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 48, p. 211-214, 1982.

KAJIWARA, T.; KODAMA, K.; HATANAKA, A. Male-attracting substance in marine brown algae the genus *Dictyopteris*. **Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish**, v. 46, n. 6, p. 771-775, 1980.

- KANG, K. A.; KIM, J. K.; JEONG, Y. J.; NA, S.; HYUN, J. W. *Dictyopteris undulata* extract induces apoptosis via induction of endoplasmic reticulum stress in human colon cancer cells. **Journal of Cancer Prevention**, v. 19, n. 2, p. 118-124, 2014.
- KANG, Y. M.; YOON, W. J.; KO, M. S.; KIM, D. S. Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Dictyopteris undulata* extracts. In: SOUTH KOREA BIOLOGICAL ENGINEERING CONFERENCE, 2012. **Anais...** South Korea, 2012. p. 211-211.
- KARAKI, N.; SEBAALY, C.; CHAHINE, N.; FAOUR, T.; ZINCHENKO, A.; RACHID, S.; KANAAN, H. The antioxidant and anticoagulant activities of polysaccharides isolated from the brown algae *Dictyopteris polypodioides* growing on the Lebanese coast. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 2, p. 43-51, 2013.
- KARAKI, N.; SEBAALY, C.; CHAHINE, N.; FAOUR, T.; ZINCHENKO, A.; RACHID, S.; KANAAN, H. The antioxidant and anticoagulant activities of polysaccharides isolated from the brown algae *Dictyopteris polypodioides* growing on the Lebanese coast. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 2, p. 43-51, 2013.
- KELMAN, D.; POSNER, E. K.; MCDERMID, K. J.; TABANDERA, N. K.; WRIGHT, P. R.; WRIGHT A. D. Antioxidant activity of Hawaiian marine algae. **Marine Drugs**, v. 10, p. 403-416, 2012.
- KHALLIL A. M.; DAGHMAN I. M.; FADY A. A. Antifungal potential in crude extracts of five selected brown seaweeds collected from the Western Libya Coast. **Journal of Microbiology and Modern Techniques**, v. 1, n. 1, p. 1-8, 2015.
- KHANA VI, M.; GHEIDARLOO, R.; SADATI, N.; ARDEKANI, M. R. S.; NABA VI, S. M. B.; TAVAJOHI, S.; OSTAD, S. N. Cytotoxicity of fucosterol containing fraction of marine algae against breast and colon carcinoma cell line. **Pharmacognosy Magazine**, v. 8, n. 29, p. 60-65, 2012.
- KICKLER, T. S. Platelet biology – an overview. **Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine**, v. 2, p. 79-85, 2006.
- KIM, A. D.; KANG, K. A.; PIAO, M. J.; KIM, K. C.; ZHENG, J.; YAO, C. W.; CHA, J. W.; HYUN, C. L.; BOO, S. J.; LEE, N. H.; NA, S. Y.; HYUN, J. W. *Dictyopteris undulata* extract induces apoptosis in human

colon cancer cells. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 19, n. 3, p. 419-425, 2014.

KIM, J. K.; KANG, K. A.; PIAO, M. J.; KUMARA, M. H.; JEONG, Y. J.; KO, M. H.; HYUN, J. W. Generation of reactive oxygen species and endoplasmic reticulum stress by *Dictyopteris undulata* extract leads to apoptosis in human melanoma cells. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, v. 34, n. 3, p. 191-200, 2015.

KIM, K. N.; HAM, Y. M.; MOON, J. Y.; KIM, M. J.; KIM, D. S.; LEE, W. J.; LEE, N. H.; HYUN, C. G. *In vitro* cytotoxic activity of *Sargassum thunbergii* and *Dictyopteris divaricata* (Jeju Seaweeds) on the HL-60 tumour cell line. **International Journal of Pharmacology**, v. 5, n. 5, p. 298-306, 2009.

KIM, S.; CHOI, H. Y.; LEE, W.; PARK, G. M.; SHIN, W. S.; KIM, Y. K. Sargaquinoic acid and sargahydroquinoic acid from *Sargassum yezoense* stimulate adipocyte differentiation through PPAR $\alpha$ /c activation in 3T3-L1 cells. **FEBS Letters**, v. 582, n. 23-24, p. 3465–3472, 2008.

KITA, K.; SHIOMI, K.; OMURA, S. Advances in drug Discovery and biochemical studies. **Parasitology**, v. 23, n. 5, p. 223-229, 2007.

KOLANJINATHAN, K.; GANESH, P.; SARANRAJ, P. Pharmacological importance of seaweeds: A review. **World Journal of Fish and Marine Sciences**, v. 6, n. 1, p. 1-15, 2014.

KOMURA, T.; WADA, S.; NAGAYAMA, H. The identification of fucosterol in the marine brown algae *Hizikia fusiformis*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 38, n. 11, p. 2275-2276, 1974.

KÖNIG, G. M.; WRIGHT, A. D. Concerted application of a shift reagent and 2D NOESY to the structure determination of new natural products from the tropical brown alga *Dictyopteris delicatula*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 33, n. 3, p. 178-183, 1995.

KOSOVEL, V.; AVANZINI, A.; SCARCIA, V.; FURLANI, A. Algae as possible sources of antitumoral agents. Preliminary evaluation of the "*in vitro*" cytostatic activity of crude extracts. **Pharmacological Research Communications**, v. 20, p. 27-28, 1988.

KRUG, U.; BUCHNER, T.; BERDEL, W. E.; MULLER-TIDOW, C. The treatment of elderly patients with acute myeloid leukemia. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 108, n. 51-52, p. 863-870, 2011.

- KRUK, J.; STRZALKA, K. Occurrence and function of  $\alpha$ -tocopherol quinone in plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 145, p. 405-409, 1995.
- KUMAR, A.; ZHANG, K. Y. J. Hierarchical virtual screening approaches in small molecule drug discovery. **Methods**, v. 71, n. 1, p. 26-37, 2015.
- KUMARI, P.; REDDY, R.; JHA, B. Quantification of selected endogenous hydroxy-oxylipins from tropical marine macroalgae. **Marine Biotechnology**, v. 16, n. 1, p. 74-87, 2014.
- KURATA, K.; TANIGUCHI, K.; SUZUKI, M. Cyclozonarone, a sesquiterpene-substituted benzoquinone derivative from the brown alga *Dictyopteris undulata*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 3, p. 749-752, 1996.
- KUROSAWA, E.; IZAWA, M.; YAMAMOTO, K.; MASAMUNE, T.; IRIE, T. Sesquiterpenes from *Dictyopteris divaricata*. II. Dictyopterol and dictyopterone. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 39, n. 11, p. 2509-2512, 1966.
- LAIRD, D. W.; POOLE, R.; WIKSTRO, M.; ALTENA, A. Pycnanthuquinone C, an unusual 6,6,5-tricyclic geranyltoquinone from the western Australian brown alga *Cystophora harveyi*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 4, p. 671-674, 2007.
- LAM, K. S. Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes. **Current Opinion in Microbiology**, v. 9, n. 3, p. 245-251, 2006.
- LEE, D.; KIM, I. Y.; SAHA, S.; CHOI, K. S. Paraptosis in the anti-cancer arsenal of natural products. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 162, p. 120-133, 2016.
- LEE, J.; KIM, G. Evaluation of antioxidant activity of marine algae-extracts from Korea. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 24, p. 227-240, 2015.
- LEE, O.; YOON, K.; KIM, K.; YOU, S.; LEE, B. Seaweed extracts as a potential tool for the attenuation of oxidative damage in obesity-related pathologies. **Journal of Phycology**, v. 47, n. 3, p. 548-556, 2011.
- LEE, R.E. **Phycology**. 3 ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999. 645 p.
- LEE, S. B.; LEE, J. Y.; SONG, D.; UM, A. B. Cancer chemopreventive effects of Korean seaweed extracts. **Food Science and Biotechnology**, v. 17, n. 3, p. 613-622, 2008.

LENDEN, P.; YLIOJA, P. M.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, C.; ENTWISTLE, D. A.; WILLIS, M. C. Replacing dichloroethane as a solvent for rhodium-catalysed intermolecular alkyne hydroacylation reactions: the utility of propylene carbonate. **Green Chemistry**, v. 13, p. 1980-1982, 2011.

LHULLIER, C. **Triagem de macroalgas bênticas do litoral de Santa Catarina biomonitorada pelo ensaio de letalidade para larvas de *Artemia salina* e investigação fitoquímica de *Pterocliadiella capillacea***. 2005. 103p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 2005.

LI, B.; LU, F.; WEI, X.; ZHAO, R. Fucoidan: Structure and bioactivity. **Molecules**, v. 13, n. 8, p. 1671-1695, 2008.

LI, R.; WU, G.; CAI, X.; YE, Y. In vitro anticoagulant activity of polyanionic graft chains modified poly(vinyl alcohol) particles. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 134, p. 27-32, 2017.

LI, X.; NIU, R.; FAN, X.; HAN, L.; ZHANG, L. Macroalgae as a source of alpha-glucosidase inhibitors. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 23, n. 3, p. 354-356, 2005.

LIMA, L. M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1456-1468, 2007.

LIN, H.; TSAI, W.; CHIU, T. Antioxidant properties of seven cultivated and natural edible seaweed extracts from Taiwan. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 21, n. 3, p. 248-264, 2012.

LIRA, D. P. **Constituintes químicos e atividade biológica dos organismos marinhos: *Caulerpa mexicana*, *Bryothamnion triquetrum*, *Hypnea musciformis* e *Ircinia felix***. 2013. 174 p. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, 2013.

LIRA, D. P. **Constituintes químicos e atividade biológica dos organismos marinhos: *Caulerpa meicana*, *Bryothamnion triquetrum*, *Hypnea musciformis* e *Ircinia felix***. 2013. 178p. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

LITTLER, M. M.; LITTLER, D. S. The evolution of thallus form and survival strategies in benthic marine macroalgae: field and laboratory tests of a functional form model. **The American Naturalist**, v. 116, n. 1, p. 25-44, 1980.

LIU, L.; HEINRICH, M.; MYERS, S.; DWORJANYN, S. A. Towards a better understanding of medicinal uses of the brown seaweed *Sargassum* in Traditional Chinese Medicine: a phytochemical and pharmacological review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, n. 3, p. 591-619, 2012.

LIU, Y.; TANG, Q.; DUAN, X.; TANG, T.; KE, Y.; ZHANG, L.; LI, C.; LIU, A.; SU, Z.; HU, B. Antioxidant and anticoagulant activities of mycelia polysaccharides from *Catathelasma ventricosum* after sulfated modification. **Industrial Crops & Products**, v. 112, p. 53-60, 2018.

LO, W.; WU, C.; CHANG, F.; WANG, W. Antiplatelet and anti-HIV constituents from *Euchresta Formosana*. **Natural Products Research**, v. 17, n. 2, p. 91-97, 2003.

LONGO, G. O.; HAY, M. E.; FERREIRA, C. E. L.; FLOETER, S. R. Trophic interactions across 61 degrees of latitude in the Western Atlantic. **Global Ecology and Biogeography**, v. 28, n. 1, p. 107-117, 2019.

LONGO, G. O.; MORAIS, R. A.; MARTINS, C. D. L.; MENDES, T. C.; AUED, A. W.; CÂNDIDO, D. V.; OLIVEIRA, J. C.; NUNES, L. T.; FONTOURA, L.; SISSINI, M. N.; TESCHIMA, M. M.; SILVA, M. B.; RAMLOV, F.; GOUVEA, L. P.; FERREIRA, C. E. L.; SEGAL, B.; HORTA, P. A.; FLOETER, S. R. Between-habitat variation of benthic cover, reef fish assemblage and feeding pressure on the benthos at the only atoll in South Atlantic: Rocas Atoll, NE Brazil. **Plos One**, v. 10, n. 6, p. 1-29, 2015.

LORENZO-MORALES, J.; KHAN, N. A.; WALOCHNIK, J. An update on *Acanthamoeba keratitis*: diagnosis, pathogenesis and treatment. **Parasite**, v. 22, n. 10, p. 1-20, 2015.

LORENZO-MORALES, J.; MARTÍN-NAVARRO, C.; LÓPEZ-ARENCIBIA, A.; ARNALICH-MONTIEL, F.; PIÑERO, J. E.; VALLADARES, B. *Acanthamoeba keratitis*: an emerging disease gathering importance worldwide? **Trends in Parasitology**, v. 29, n. 4, p. 181-187, 2013.

LUCAS, R.; GIANNINI, C.; D'AURIA, M. V.; PAYÁ, M. Modulatory effect of bolinaquinone, a marine sesquiterpenoid, on acute and chronic inflammatory process. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 304, n. 3, p. 1172-1180, 2003.

MAGALHÃES, K. D.; COSTA, L. S.; FIDELIS, G. P.; OLIVEIRA, R. M.; NOBRE, L. T. D. B.; DANTAS-SANTOS, N.; CAMARA, R. B. G.; ALBUQUERQUE, I. R. L.; CORDEIRO, S. L.; SABRY, D. A.; COSTA, M. S. S. P.; ALVES, L. G.; ROCHA, H. A. O. Anticoagulant, antioxidant and antitumor activities of heterofucans from the seaweed *Dictyopteris delicatula*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 5, p. 3352-3365, 2011.

MALATYALI, E.; TEPE, B.; DEGERLI, S.; BERK, S.; AKPULAT, H. A. *In vitro* amoebicidal activity of four *Peucedanum* species on *Acanthamoeba castellanii* cysts and trophozoites. **Parasitology Research**, v. 110, p. 167-174, 2012.

MARCIANO-CABRAL, F.; CABRAL, G. *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 2, p. 273-307, 2003.

MARQUES, L. V.; VILLAÇA, R.; PEREIRA, R. C. Susceptibility of macroalgae to herbivorous fishes at Rocas Atoll, Brazil. **Botanica Marina**, v. 49, p. 379-385, 2006.

MARTINS, A.; VIEIRA, H.; GASPAR, H.; SANTOS, S. Marketed marine natural products in the pharmaceutical and cosmeceutical industries: tips for success. **Marine Drugs**, v. 12, n. 2, p. 1066-1101, 2014.

MATA, A. T.; PROENÇA, C.; FERREIRA, A. R.; SERRALHEIRO, M. L. M.; NOGUEIRA, J. M. F.; ARAÚJO, M. E. M. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. **Food Chemistry**, v. 103, n. 3, p. 778-786, 2007.

MATTA, C. B. B.; SOUZA, É. T.; QUEIROZ, A. C.; LIRA, D. P.; ARAÚJO, M. V.; CAVALCANTE-SILVA, L. H. A.; MIRANDA, G. E. C.; ARAÚJO-JÚNIOR, J. X.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SANTOS, B. V. O.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S. Antinociceptive and anti-inflammatory activity from algae of the genus *Caulerpa*. **Marine Drugs**, v. 9, n. 3, p. 307-318, 2011.

MAYER, A. M. S.; PAUL, V. J.; FENICAL, W.; NORRIS, J. N.; CARVALHO, M. S.; JACOBS, R. S. Phospholipase A<sub>2</sub> inhibitors from marine algae. **Hydrobiologia**, v. 260/261, p. 521-529, 1993.

McINNES, A. G.; WALTER, J. A.; WRIGHT, J. L. C. <sup>13</sup>C NMR spectra of  $\Delta^{24(28)}$  phytosterols. **Organic Magnetic Resonance**, v. 13, n. 4, 1980.

MEDEIROS, H. E.; GAMA, B. A. P.; GALLERANI, G. Antifouling activity of seaweed extracts from Guarujá, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 55, n. 4, p. 257-264, 2007.

MEGA, J.; SIMON, T. Pharmacology of antithrombotic drugs: an assessment of oral antiplatelet and anticoagulant treatments. **The Lancet**, v. 386, n. 9990, p. 281-291, 2015.

MELO, K, R. T.; ALMEIDA-LIMA, J.; GOMES, D. L.; DANTAS-SANTOS, N.; CAMARA, R. G. B.; ROCHA, H. A. O. Caracterização e atividade anticoagulante de polissacarídeos sulfatados extraídos da alga marrom *Dictyopteris justii*. **Holos**, v. 1, p. 29-40, 2012.

MENDES, T. C.; CORDEIRO, C. A. M. M.; FERREIRA, C. E. L. An experimental evaluation of macroalgal consumption and selectivity by nominally herbivorous fishes on subtropical rocky reefs. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 471, p. 146–152, 2015.

MOLINSKI, T. F.; DALISAY, D. S.; LIEVENS, S.; SALUDES, J. P. Drug development from marine natural products. **Nature Reviews - Drug Discovery**, v. 8, n. 1, p. 69-85, 2009.

MONTEIRO, R. C. P.; IVAR DO SUL, J.; COSTA, M. F. Plastic pollution in islands of the Atlantic Ocean. **Environmental Pollution**, v. 238, p. 103-110, 2018.

MOORE, R. E. **Algal nonisoprenoids**. In: SCHEUER, P. J. (ed). Marine natural products V1: chemical and biological perspectives. Academic Press: New York, San Francisco, London, 1978, 307 p.

MOORE, R. E. Bis-(3-oxoundecyl) polysulphides in *Dictyopteris*. **Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications**, n. 19, p. 1168-1169, 1971.

MOORE, R. E. Volatile compounds from marine algae. **Accounts of Chemical Research**, v. 10, n. 2, p. 40-47, 1977.

MOORE, R. E.; MISTYSYN, J.; PETTUS, J. A. (-)-Bis-(3-acetoxyundec-5-enyl) disulphide and *S*-(-)-3-acetoxyundec-5-enyl thioacetate, possible precursors to undeca-1,3,5-trienes in *Dictyopteris*. **Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications**, n. 6, p. 301-364, 1972.

MOORE, R. E.; PETTUS, J. A. Dictyopterene A, an odoriferous constituent from algae of the genus *Dictyopteris*. **Tetrahedron Letters**, v. 9, n. 46, p. 4787-4790, 1968.

MOORE, R. E.; PETTUS, J. A.; MISTYSYN, J. Odoriferous C<sub>11</sub> hydrocarbons from Hawaiian *Dictyopteris*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 39, n. 15, p. 2201-2207, 1974.

MOORE, R. E.; YOST, G. Dihydrotropones from *Dictyopteris*. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 24, p. 937-938, 1973.

MOORE, R. M.; WEBB, M.; TOKARCZYK, R.; WEVER, R. Bromoperoxidase and iodoperoxidase enzymes and production of halogenated methanes in marine diatom cultures. **Journal of Geophysical Research**, v. 101, n. C9, p. 20899-20908, 1996.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

MOURA, L. A.; ALMEIDA, A. C. M.; DOMINGOS, T. F. S.; ORTIZ-RAMIREZ, F.; CAVALCANTI, D. N.; TEIXEIRA, V. L.; FULY, A. L. Antiplatelet and anticoagulant effects of diterpenes isolated from the marine alga, *Dictyota menstrualis*. **Marine Drugs**, v. 12, n. 5, p. 2471-2484, 2014.

MOURA, L. A.; BIANCO, É. M.; PEREIRA, R. C.; TEIXEIRA, V. L.; FULY, A. L. Anticoagulation and antiplatelet effects of a dolastane diterpeno isolated from the marine brown alga *Canistrocarpus cervicornis*. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 31, n. 2, p. 235-240, 2011.

MOURA, L. A.; ORTIZ-RAMIREZ, F.; CAVALCANTI, D. N.; RIBEIRO, S. M.; MURICY, G.; TEIXEIRA, V. L.; FULY, A. L. Evaluation of marine brown algae and sponges from Brazil as anticoagulant and antiplatelet products. **Marine Drugs**, v. 9, n. 8, p. 1346-1358, 2011.

NAHAS, R.; ABATIS, D.; ANAGNOSTOPOULOU, M. A.; KEFALAS, P.; VAGIAS, C.; ROUSSIS, V. Radical-scavenging activity of Aegean Sea marine algae. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 577-581, 2007.

NAMARA, K. M.; ALZUBAIDI, H.; JACKSON, J. K. Cardiovascular disease as a leading cause of death: how are pharmacists getting involved? **Integrated Pharmacy Research and Practice**, v. 8, p. 1-11, 2019.

NAMIKOSHI, M.; FUJIWARA, T.; NISHIKAWA, T.; UKAI, K. Natural abundance  $^{14}\text{C}$  content of dibutyl phthalate (DBP) from three marine algae. **Marine Drugs**, v. 4, p. 290-297, 2006.

NEILSON, E. H.; GOODGER, J. Q. D.; WOODROW, I. E.; MOLLER, B. L. Plant chemical defense: at what cost? **Trends in Plant Science**, v. 18, n. 5, p. 250-258, 2013.

NELSON, J.; SINGH, U. *Acanthamoeba* species. In: LONG, S. S.; PROBER, C. G.; FISCHER, M. (eds.). **Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases**. Stanford: Elsevier, 2018. 1668 p.

NIZAMUDDIN, M.; SAIFULLAH, S. M. Studies on marine algae of Karachi: *Dictyopteris* Lamouroux. **Botanica Marina**, v. 10, n. 1-2, p. 169-179, 1967.

NOWICKA, B.; KRUK, J. Occurrence, biosynthesis and function of isoprenoid quinones. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, p. 1587-1605, 2010.

NUNNÉ-BOSCH, S. Alpha-tocopherol: a multifaceted molecule in plants. **Vitamins and Hormones**, v. 76, p. 375-392, 2007.

NYLUND, G. M.; GRIBBEN, P. E.; NYS R.; STEINBERG, P. D.; PAVIA, H. Surface chemistry versus whole-cell extracts: antifouling tests with seaweed metabolites. **Marine Ecology Progress Series**, v. 329, p. 73-84, 2007.

OCHI, M.; KOTSUKI, H.; INOUE, S.; TANIGUCHI, M.; TOKOROYAMA, T. Isolation of 2-(3,7,11-trimethyl-2,6,10-dodecatrienyl) hydroquinone from the brown seaweed *Dictyopteris undulata*. **Chemistry Letters**, v. 7, p. 831-832, 1979.

OCHI, M.; KOTSUKI, H.; MURAOKA, K.; TOKOROYAMA, T. The structure of yahazunol, a new sesquiterpene-substituted hydroquinone from the brown seaweed *Dictyopteris undulata*. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 52, n. 2, p. 629-630, 1979.

OKADA, Y.; LORENZO, J. A.; FREEMAN, A. M.; TOMITA, M.; MORHAM, S. G.; RAISZ, L. G.; PILBEAM, C. C. Prostaglandin G/H

synthase-2 is required for maximal formation of osteoclast-like cells in culture. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 105, n. 6, p. 823-832, 2000.

OLIVEIRA, G. H. M.; FARMER, J. A. Novos Fatores de Risco Cardiovascular. **Revista da SOCERJ**, v. 16, n. 2, p. 183-193, 2003.

ORTILLÉS, A.; BELLOC, J.; RUBIO, E.; FERNÁNDEZ, M. T.; BENITO, M.; CRISTÓBAL, J. A.; CALVO, B.; GOÑI, P. *In-vitro* development of an effective treatment for acanthamoeba keratitis. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 2017: no prelo. DOI: 10.1016/J.ijantimicag.2017.03.033

ORTIZ, J.; ROMERO, N.; ROBERT, P.; ARAYA, J.; LOPEZ-HERNÁNDEZ, J.; BOZZO, C.; NAVARRETE, E.; OSORIO, A.; RIOS, A. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 98-104, 2006.

OZDEMIR, G.; HORZUM, Z.; SUKATAR, A.; KARABAY-YAVASOGLU, N. U. Antimicrobial activities of volatile components and various extracts of *Dictyopteris membranaceae* and *Cystoseira barbata* from the Coast of Izmir, Turkey. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 3, p. 183-188, 2006.

PASCUAL TERESA, J.; URONES, J. G.; SANCHES MARCOS, I.; FERNANDEZ FERRERAS, J.; LITHGOW BERTELLONI, A. M.; BASABE BARCALA, P. Diterpenoids from *Nepeta tuberosa* subsp. *reticulata*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 5, p. 1481-1485, 1987.

PEREIRA-FILHO, G. H.; AMADO-FILHO, G. M.; GUIMARÃES, S. M. P. B.; MOURA, R. L.; SUMIDA, P. Y. G.; ABRANTES, D. P.; BAHIA, R. G.; GÜTH, A. Z.; JORGE, R. R.; FRANCINI FILHO, R. B. Reef fish and benthic assemblages of the Trindade and Martin Vaz island group, Southwestern Atlantic. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 59, n. 3, p. 201-212, 2011.

PEREZ, R. M.; AVILA, J. G.; PEREZ, S.; MARTINEZ, A.; MARTINEZ, G. Antimicrobial activity of some American algae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 29, n. 1, p. 111-116, 1990.

PETTUS, J. A., **Odoriferous constituents of *Dictyopteris***. 1971. 243p. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade do Havaí. Havaí, 1971.

PETTUS, J. A.; MOORE, R. E. Isolation and structure determination of an undeca-1,3,5,8-tetraene and dictyopterene B from algae of the genus *Dictyopteris*. **Chemical Communications**, n. 17, p. 1093-1094, 1970.

PETTUS, J. A.; MOORE, R. E. Isolation and structure determination of dictyopterenes C' and D' from *Dictyopteris*. Stereospecificity in the Cope Rearrangement of Dictyopterenes A and B. **Journal of the American Chemical Society**, v. 93, n. 12, p. 3087-3088, 1971.

PICCIRILLO, E.; AMARAL, A. T. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Química Nova**, v. 41, n. 6, p. 662-677, 2018.

POHNERT, G.; BOLAND, W. The oxylipin chemistry of attraction and defense in brown algae and diatoms. **Natural Product Reports**, v. 19, p. 108-122, 2002.

POLAT, Z. A.; VURAL, A.; TEPE, B.; CETIN, A. *In vitro* amoebicidal activity of four *Allium* species on *Acanthamoeba castellanii* and their cytotoxic potentials on corneal cells. **Parasitology Research**, v. 101, p. 397-402, 2007.

QIAO, Y.; JI, N.; WEN, W.; YIN, X.; XUE, Q. A new epoxy-cadinane sesquiterpene from the marine brown alga *Dictyopteris divaricata*. **Marine Drugs**, v. 7, n. 4, p. 600-604, 2009.

QUIMBAYO, J. P.; DIAS, M. S.; KULBICKI, M.; MENDES, T. C.; LAMB, R. W.; JOHNSON, A. F.; ABURTO-OROPEZA, O.; ALVARADO, J. J.; BOCOS, A. A.; FERREIRA, C. E. L.; GARCIA, E.; LUIZ, O. J.; MASCAREÑAS-OSORIO, I.; PINHEIRO, H. T.; RODRIGUEZ-ZARAGOZA, F.; SALAS, E.; ZAPATA, F. A.; FLOETER, S. R. Determinants of reef fish assemblages in tropical oceanic islands. **Ecography**, v. 42, n. 1, p. 77-87, 2019.

Rajamanikyam, M.; Vadlapudi, V.; Parvathaneni, S. P.; Koude, D.; Sripadi, P.; Misra, S.; Amanchy, R.; Upadhyayula, S. M. Isolation and characterization of phthalates from *Brevibacterium mcbrellneri* that cause cytotoxicity and cell cycle arrest. **EXCLI Journal**, v. 16, p. 375-387, 2017.

- RANGEL, M.; FALKENBERG, M. An overview of the marine natural products in clinical trials and on the market. **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 3, n. 6, p. 421-428, 2015.
- RISS T. L.; MORAVEC R. A.; NILES A. L.; DUELLMAN, S.; BENINK, H. A.; WORZELLA, T. J.; MINOR, L. **Cell viability assays**. In: SITTAMPALAM G. S.; COUSSENS N. P.; BRIMACOMBE K. (Ed.). Assay Guidance Manual. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences, 2016.
- RODRIGUES, R. P.; MANTOANI, S. P.; ALMEIDA, J. R.; PINSETTA, F. R.; SEMIGHINI, E. P.; SILVA, V. B.; SILVA, C. H. P. Estratégias de triagem virtual no planejamento de fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 739-776, 2012.
- ROLLER, P.; AU, K.; MOORE, R. E. Isolation of *S*-(3-oxoundecyl) thioacetate, bis-(3-oxoundecyl) disulphide, (-)-3-hexyl-4,5-dithiacycloheptanone, and *S*-(trans-3-oxoundec-4-enyl) thioacetate from *Dictyopteris*. **Chemical Communications**, n. 10, p. 503-504, 1971.
- ROUSSEAU, F.; BURROWES, R.; PETERS, A. F.; KUHNENKAMP, R.; REVIERS, B. A comprehensive phylogeny of the Phaeophyceae based on nrDNA sequences resolves the earliest divergences. **Comptes rendus de L'Académie des sciences. Série III, Sciences de la vie**, v. 324, n. 4, p. 305-319, 2001.
- RUI, F.; BOLAND, W. Algal pheromone biosynthesis: stereochemical analysis and mechanistic implications in gametes of *Ectocarpus siliculosus*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 75, n. 12, p. 3958-3964, 2010.
- RUIZ-TORRES, V.; ENCINAR, J. A.; HERRANZ-LÓPEZ, M.; PÉREZ-SÁNCHEZ, A.; GALIANO, V.; BARRAJÓN-CATALÁN, E.; MICOL, V. An updated review on marine anticancer compounds: the use of virtual screening for the discovery of small-molecule cancer drugs. **Molecules**, v. 22, n. 7, p. E1037, 2017.
- SAINI, R. K.; KEUM, Y. Tocopherols and tocotrienols in plants and their products: A review on methods of extraction, chromatographic separation, and detection. **Food Research International**, v. 82, p. 59-70, 2016.
- SARIN, P. S.; SUN, D.; THORNTON, A.; MÜLLER, W. E. Inhibition of replication of the etiologic agent of acquired immune deficiency syndrome (human T-lymphotropic retrovirus/lymphadenopathy-associated virus) by

avarol and avarone. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 78, n. 4, p. 663-666, 1987.

SASTRY, V. M. V. S.; RAO, G. R. K.; Dioctyl phthalate, and antibacterial compound from the marine brown alga - *Sargassum wightii*. **Journal of Applied Phycology**, v. 7, p. 185-186, 1995.

SCHEID, P. L. Free-living amoebae as human pathogens: (Genus) *Acanthamoeba*. In: MEHLHOM, H. **Encyclopedia of Parasitology**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2015. 3084 p.

SCHNITZLER, I.; BOLAND, W.; HAY, M. E. Organic sulfur compounds from *Dictyopteris* spp. deter feeding by an herbivorous amphipod (*Ampithoe longimana*) but not by an herbivorous sea urchin (*Arbacia punctulata*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n. 10, p. 1715-1732, 1998.

SCHNITZLER, I.; POHNERT, G.; HAY, M.; BOLAND, W. Chemical defense of brown algae (*Dictyopteris* spp.) against the herbivorous *Ampithoe longimana*. **Oecologia**, v. 126, n. 4, p. 515-521, 2001.

SEGAWA, M.; YAMANO, K., SHIRAHAMA, H. A germacrane-type sesquiterpene from the brown alga *Dictyopteris divaricata*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 3, p. 973-974, 1990.

SERAFINI, T. Z.; FRANÇA, G. B.; ANDRIGUETTO-FILHO, J. Ilhas oceânicas brasileiras: biodiversidade conhecida e sua relação com o histórico de uso e ocupação humana. **Revista de Gestão Costeira Integrada**, v. 10, n. 3, p. 281-301, 2010.

SHI, D. Y.; HAN, L. J.; SUN, J.; WANG, Y.; YANG, Y. C.; SHI, J. G.; FAN, X. Chemical constituents from marine alga *Chaetomorpha basiretorsa*. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v. 30, n. 5, p. 347-350, 2005.

SHIMIZU, H.; KOYAMA T.; YAMADA S.; LIPTON S. A.; SATOH T. Zonarol, a sesquiterpene from the brown algae *Dictyopteris undulata*, provides neuroprotection by activating the Nrf2/ARE pathway. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 457, n. 4, p. 718-722, 2015.

SHIRAISHI, K.; TANIGUCHI, K.; KURATA, K.; SUZUKI, M. Effects of the methanol extracts from the brown alga *Dictyopteris divaricata* on feeding by the sea urchin *Strongylocentrotus nudus* and the abalone

*Haliotis discus hannai*. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 57, p. 1945-1948, 1991.

SHRADER, W. D.; AMAGATA, A.; BARNES, A.; HINMAN, A.; JANKOWSKI, O.; LEE, E.; KHEIFETS, V.; KOMATSUZAKI, R.; MOLLARD, P.; MURASE, K.; RIOUX, P.; WESSON, K.; MILLER, G. Towards a modern definition of vitamin E - evidence for a quinone hypothesis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 391-395, 2012.

SIFAOU, I.; LÓPEZ-ARENCEBIA, A.; TICONA, J. C.; MARTÍN-NAVARRO, C. M.; REYES-BATLLE, M.; MEJRI, M.; LORENZO-MORALES, J.; JIMÉNEZ, A. I.; VALLADARES, B.; LOPEZ-BAZZOCCHI, I.; ABDERABBA, M.; PIÑERO, J. E. Bioassay guided isolation and identification of anti-Acanthamoeba compounds from Tunisian olive leaf extracts. **Experimental Parasitology**, v. 145, p. S111-S114, 2014.

SILBERFELD, T.; ROUSSEAU, F.; REVIERS, B. An updated classification of brown algae (Ochrophyta, Phaeophyceae). **Cryptogamie, Algologie**, v. 35, n. 2, p. 117-156, 2014.

SILVA, D. F. **Influência da comunidade bentônica na pressão alimentar dos peixes recifais em ilhas oceânicas brasileiras**. 2016. 54p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas). Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2016.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 490 p.

SIQUEIRA, A. S. E.; SIQUEIRA-FILHO, A. G.; LAND, M. G. P. Análise do impacto econômico das doenças cardiovasculares nos últimos cinco anos no Brasil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 1, p. 39-46, 2017.

SISSINI, M. N.; BARRETO, M. B. B. B.; SZÉCHY, M. T. M.; DE LUCENA, M. B.; OLIVEIRA, M. C.; GOWER, J.; LIU, G.; BASTOS, E. O.; MILSTEIN, D.; GUSMÃO, F.; MARTINELLI-FILHO, J. E.; ALVES-LIMA, C.; COLEPICOLO, P.; AMEKA, G.; GRAFTJOHNSON, K.; GOUVEA, L.; TORRANO-SILVA, B.; NAUER, F.; NUNES, J. M. C.; BARUFI, J. B.; RÖRIG, L.; RIOSMENA-RODRÍGUEZ, R.; MELLO, T.

J.; LOTUFO, L. V. C.; HORTA, P. A. The floating *Sargassum* (Phaeophyceae) of the South Atlantic Ocean – likely scenarios. **Phycologia**, v. 56, n. 3, p. 321–328, 2017.

SKROVANKOVA, S. Seaweed vitamins as nutraceuticals. In: SE-KWON KIM (Ed.). **Advances in Food and Nutrition Research**. Elsevier: Waltham, San Diego, London, Amsterdam, Oxford, v. 64, 2011, p. 357-369.

SOARES, A. O.; FERREIRA, A. G. L.; SOARES, L. R.; CORSINO, J.; GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S. Estudo químico das folhas de *Trichilia silvatica* (Meliaceae). **Química Nova**, v. 37, n. 9, p. 1487-1490, 2014.

SOARES, A. R.; ROBAINA, M. C. S.; MENDES, G. S.; SILVA, T. S. L.; GESTINARI, L. M. S.; PAMPLONA, O. S.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y.; KAISER, C. R.; ROMANOS, M. T. V. Antiviral activity of extracts from Brazilian seaweeds against herpes simplex virus. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 4, p. 714-723, 2012.

SOARES, M. O.; PAIVA, C. C.; GODOY, T.; SILVA, M. B. Atol das Rocas (Atlântico Sul Equatorial): um caso de lixo marinho em áreas remotas. **Revista da Gestão Costeira Integrada**, v. 11, n. 1, p. 149-152, 2011.

SOKOLOVA, R. V.; ERMAKOVA, S. P.; AWADA, S. M.; ZVYAGINTSEVA, T. N.; KANAAN, H. M. Composition, structural characteristics, and antitumor properties of polysaccharides from the brown algae *Dictyopteris polypodioides* and *Sargassum* sp. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 47, p. 329-334. 2011.

SONG, F. H.; FAN, X.; XU, X. L.; WANG, S. J.; LI, S.; YANG, Y. C.; SHI, J. G. Studies on chemical constituents of the brown alga *Dictyopteris divaricata*. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v. 31, n. 2, 125-128, 2006.

SONG, F. H.; FAN, X.; XU, X. L.; ZHAO, J. L.; HAN, L. J.; SHI, J. G. Chemical constituents of the brown alga *Dictyopteris divaricata*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 7, n. 6, p. 777-781, 2005.

SONG, F.; FAN, X.; XU, X.; ZHAO, J.; YANG, Y.; SHI, J. Cadinane sesquiterpenes from the brown alga *Dictyopteris divaricata*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 10, p. 1644-1649, 2004.

SONG, F.; XU, X.; LI, S.; WANG, S.; ZHAO, J.; CAO, P.; YANG, Y.; FAN, X.; SHI, J.; HE, L.; LÜ, Y. Norsesquiterpenes from the Brown Alga

*Dictyopteris divaricata*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 9, p. 1309-1313, 2005.

SONG, F.; XU, X.; LI, S.; WANG, S.; ZHAO, J.; YANG, Y.; FAN, X.; SHI, J.; HE, L. Minor sesquiterpenes with new carbon skeletons from the brown alga *Dictyopteris divaricata*. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 9, p. 1261-1266, 2006.

SOUSA, M. B.; PIRES, K. M. S.; ALENCAR, D. B.; SAMPAIO, A. H.; SAKER-SAMPAIO, S.  $\alpha$ -,  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol em algas marinhas in natura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 953-958, 2008.

STENECK, R. S.; BELLWOOD, D. R.; HAY, M. E. Herbivory in the marine realm. **Current Biology**, v. 27, p. 484-489, 2017.

STENGEL, D. B.; CONNAN, S.; POPPER, Z. A. Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial applications. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 5, p. 483-501, 2011.

STERGIOU, K. I. Feeding habits of the Lessepsian migrant *Siganus furidus* in the eastern Mediterranean, its new environment. **Journal of Fish Biology**, v. 33, n. 4, p. 531-543, 1988.

SUNDBAEK, K. B.; KOCH, I D. W.; VILLARO, C. G.; RASMUSSEN, N. S.; HOLDT, S. L.; HARTMANN, N. B. Sorption of fluorescent polystyrene microplastic particles to edible seaweed *Fucus vesiculosus*. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 5, p. 2923-2927, 2018.

SUZUKI, M.; KOWATA, N.; KOBAYASHI, H.; TANAKA, I. The structure of a germacrane-type sesquiterpene alcohol, a possible precursor of guaiane-type sesquiterpenes from the brown alga *Dictyopteris divaricata*. **Chemistry Letters**, v. 19, n. 2, p. 2187-2190, 1990.

SUZUKI, M.; KOWATA, N.; KUROSAWA, E. Epicubebol and related sesquiterpenoids from the brown alga *Dictyopteris divaricata*. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 54, n. 8, p. 2366-2368, 1981.

TAKAOKA, M.; ANDO, Y. Essential oil of seaweeds. I. Composition of the oil of *Dictyopteris divaricata*. **Nippon Kagaku Kaishi**, v. 72, p. 999-1003, 1951.

TAN, H.; TATEMATSU, H.; YAMADA, K. Isolation, structures, and reactions of an odoriferous substance, (+)-dictyoprolene and the related

compound obtained from brown alga *Dictyopteris prolifera*. **Plant Biochemistry**, v. 22, p. 605-610, 1979.

TANG, Y.; WEI, J.; ZHONG, W.; LIU, X. Synthesis and characterization of chroman-containing compounds and their preliminary assessment of cytotoxicity toward two human cancer cell lines. **Heteroatom Chemistry**, v. 21, n. 6, p. 423-429, 2010.

TEIXEIRA, V. L.; BARBOSA, J. P.; ROCHA, F. D.; KAPLAN, M. A. C.; HOUGHTON, P. J.; PEREIRA, R. C. Hydroperoxysterols from the Brazilian brown seaweeds *Dictyopteris justii* and *Spatoglossum schroederi* (Dictyotales): a defensive strategy against herbivory. **Natural Product Communications**, v. 1, 293-297. 2006.

TEPE, B.; MALATYALI, E.; DEGERLI, S.; BERK, S. *In vitro* amoebicidal activities of *Teucrium polium* and *T. chamaedrys* on *Acanthamoeba castellanii* trophozoites and cysts. **Parasitology Research**, v. 110, p. 1773-1778, 2012.

TOPALKARA, A.; VURAL, A.; POLAT, Z.; TOKER, M. I.; ARICI, M. K.; OZAN, F.; CETIN, A. *In vitro* amoebicidal activity of propolis on *Acanthamoeba castellanii*. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 23, n. 1, p. 40-45, 2007.

TORRE, L. A.; SIEGEL, R. L.; WARD, E. M.; JEMAL, A. Global cancer incidence and mortality rates and trends - An update. **Cancer, Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 25, n. 1, p. 16-27, 2016.

TRIPLETT, D. A.; HARMS, C. S.; KOEPKE, J. A. The effect of heparin on the activated partial thromboplastin time. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 70, n. 3, p. 556-559, 1978.

TUCKER, J. M.; TOWNSEND, D. M. Alpha-tocopherol: roles in prevention and therapy of human disease. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 59, p. 380-387, 2005.

TÜNEY, I.; ÇADIRCI, B. H.; ÜNAL, D.; SUKATAR, A. Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Üzmir, Turkey). **Turkish Journal of Biology**, v. 30, p. 171-175, 2006.

TÜNEY, I.; ÇADIRCI, B. H.; ÜNAL, D.; SUKATAR, A. Locational and organic solvent variation in antimicrobial activities of crude extracts of marine algae from the coast of Izmir (Turkey). **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 16, p. 428-434, 2007.

VALEEM, E. E.; SHAMEEL, M. An account of fatty acid composition of algae growing in Pakistan. **International Journal of Phycology and Phytochemistry**, v. 8, n. 2, p. 115-126, 2012.

VARDANYAN, R. S.; HRUBY, V. J. Anticoagulants, antiaggregants, thrombolytics, and hemostatics. In: VARDANYAN, R. S.; HRUBY, V. J. **Synthesis of essential drugs**. Amsterdam: Elsevier, 2006, 617 p.

VAZ-PINTO, F.; OLABARRIA, C.; ARENAS, F.. Ecosystem functioning impacts of the invasive seaweed *Sargassum muticum* (Fucales, Phaeophyceae). **Journal of Phycology**, v. 50, n. 1, p. 108–116, 2014.

VINAYAK, R. C.; SABU A. S.; CHATTERJI, A. Bio-prospecting of a few brown seaweeds for their cytotoxic and antioxidant activities. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1-9, 2011.

VLACHOS, V.; CRITCHLEY, A. T.; HOLY, A. Antimicrobial activity of extracts from selected Southern African marine macroalgae. **South African Journal of Science**, v. 93, p. 328-332, 1997.

VLACHOS, V.; CRITCHLEY, A. T.; HOLY, A. Differential antibacterial activity of extracts from selected Southern African macroalgal thalli. **Botanica Marina**, v. 42, n. 2, p. 165-173, 1999.

WAHIDULLA, S.; D´SOUZA, L.; GOVENKER, M. Lipid constituents of the red alga *Acantophora spicifera*. **Phytochemistry**, v. 48, n. 7, p. 1203-1206, 1998.

WANG, S.; YANG, S.; LIU, W.; ZHANG, Y.; XU, P.; WANG, T.; LING, T.; LIU, R. Alpha-tocopherol quinine ameliorates spatial memory deficits by reducing beta-amyloid oligomers, neuroinflammation and oxidative stress in transgenic mice with Alzheimer's disease. **Behavioural Brain Research**, v. 296, p. 109-117, 2016.

WHITTAKER, R. J.; FERNÁNDEZ-PALACIOS, J. M. **Island biogeography: ecology, evolution, and conservation**. 2 ed. New York: Oxford University Press, 2007. 416 p.

WHO. World Health Organization. **Cancer**. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>. Acesso em: 15 jul. 2018.

- WIJESEKARA, I.; PANGESTUTI, R.; KIM, S. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 14-21, 2011.
- WIJTMANS, M.; PRATT, D. A.; VALGIMIGLI, L.; DILABIO, G. A.; PEDULLI, G. F.; PORTER, N. A. 6-amino-3-pyridinol: towards diffusion-controlled chain-breaking antioxidants. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 42, n. 36, p. 4370-4373, 2003.
- WIRTH, D.; FISCHER-LUI, I.; BOLAND, W.; ICHELN, D.; RUNGE, T.; KÖNIG, W. A.; PHILLIPS, J.; CLAYTON, M. Unusual and Novel C<sub>11</sub>H<sub>16</sub> hydrocarbons from the southern Australian brown alga *Dictyopteris acrostichoides* (Phaeophyceae). **Helvetica Chimica Acta**, v. 75, p. 734-744, 1992.
- WITKOWSKI, S.; WALEJKO, P.; WAWER, I. <sup>13</sup>C CP MAS NMR study of 6-O-(β-D-glucopyranosyl)- and 6-O-(β-D-mannopyranosyl)-d-α-tocopherols. **Solid State Nuclear Magnetic Resonance**, v. 10, n. 3, p. 123-128, 1998.
- WRATTEN, S.; FAULKNER, D. J. Cyclic polysulfides from the red alga *Chondria californica*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 41, n. 14, p. 2465-2467, 1976.
- WRIGHT, A. D.; COLL, J. C. Tropical marine algae, VII. The chemical composition of marine algae from North Queensland waters. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 4, p. 845-861, 1990.
- WU, T.; TSANG, Z.; WU, P.; LIN, F.; LI, C.; TENG, C.; LEE, K. New constituents and antiplatelet aggregation and anti-HIV principles of *Artemisia capillaris*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 9, p. 77-83, 2001.
- XIANCUI, L.; RONGLI, N.; XIAO, F.; LIJUN, H.; LIXIN, Z. Macroalga as a source of alpha-glucosidase inhibitors. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 23, n. 3, p. 354-356, 2005.
- XU, N.; FAN, X.; YAN, X.; TSENG, C. K. Screening marine algae from China for their antitumor activities. **Journal of Applied Phycology**, v. 16, n. 6, p. 451-456, 2004.
- XU, X.; YIN, L.; SONG, H.; FAN, X.; SHI, J. Monoterpene constituents of the brown alga *Dictyopteris divaricata* Okam. **Marine Sciences**, v. 10, 2012.

YAMADA S.; KOYAMA T.; NOGUCHI H.; UEDA Y.; KITSUYAMA R.; SHIMIZU H.; TANIMOTO A.; WANG K. Y.; NAWATA A.; NAKAYAMA T.; SASAGURI Y.; SATOH T. Marine hydroquinone zonarol prevents inflammation and apoptosis in dextran sulfate sodium-induced mice ulcerative colitis. **Plos One**, v. 19, n. 11, p. e113509, 2014.

YAMADA, K.; OJIKA, M.; TAN, H. Isolation and structure of neodictyoprolene, a new C<sub>11</sub>-compound of biogenetic significance from a brown alga *Dictyopteris prolifera*. **Chemistry Letters**, v. 9, n. 12, p. 1633-1634, 1980.

YAMADA, K.; TAN, H.; TATEMATSU, H. Isolation and structure of dictyoprolene, a possible precursor of various undecanes in brown algae from *Dictyopteris prolifera*. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 13, p. 572-573, 1979.

YAMADA, K.; TAN, H.; TATEMATSU, H.; OJIKA, M. Dictyoprolene and neodictyoprolene, two new odoriferous compounds from the brown alga *Dictyopteris prolifera*: structure and synthesis. **Tetrahedron**, v. 42, n. 14, p. 3775-3780, 1986.

YAMAMOTO, Y.; AKAKABE, Y.; MATSUI, K.; SHIMIZU, H.; KAJIWARA, T. Neodictyoprolenol and dictyoprolenol, the possible biosynthetic intermediates of dictyopterenes, in the japanese brown algae *Dictyopteris*. **Zeitschrift für Naturforschung C - A Journal of Biosciences**, v. 56, n. 1-2, p. 6-12, 2001.

YANG, E.; MOON, J.; KIM, S. S.; YANG, K.; LEE, W. J.; LEE, N. H.; HYUN, C. Jeju seaweeds suppress lipopolysaccharide-stimulated proinflammatory response in RAW 264.7 murine macrophages. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 7, p. 529-537, 2014.

YANG, F.; ZHANG, L.; FENG, M.; LIU, A.; LI, J.; ZHAO, T.; LAI, X.; WANG, B.; GUO, Y.; MAO, S. Dictyoptesterols A–C,  $\Delta^{22}$ -24-oxo cholestane-type sterols with potent PTP1B inhibitory activity from the brown alga *Dictyopteris undulata* Holmes. **Fitoterapia**, v. 130, p. 241-246.

YANG, S.; WANG, W.; LING, T.; FENG, Y.; DU, X.; ZHANG, X.; SUN, X.; ZHAO, M.; XUE, D.; YANG, Y.; LIU, R. Alpha-tocopherol quinone inhibits beta-amyloid aggregation and cytotoxicity, disaggregates preformed fibrils and decreases the production of reactive oxygen species, NO and inflammatory cytokines. **Neurochemistry International**, v. 57, p. 914-922, 2010.

YASUHARA-BELL, J.; YANG, Y.; BARLOW, R.; TRAPIDO-ROSENTHAL, H.; LU, Y. *In vitro* evaluation of marine-microorganism extracts for anti-viral activity. **Virology Journal**, v. 7, n. 182, p. 1-11, 2010.

YUN, H. Y.; CRUZ, J.; TREITSCHKE, M.; WAHL, M.; MOLIS, M. Testing for the induction of anti-herbivory defences in four Portuguese macroalgae by direct and water-borne cues of grazing amphipods. **Helgoland Marine Research**, v. 61, n. 3, p. 203–209, 2007.

ZHANG, G.; LI, J.; ZHU, T.; GU, Q.; LI, D. Advanced tools in marine natural drug discovery. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 42, p. 13-23, 2016.

ZHANG, W.; DUAN, X.; HUANG, H.; ZHANG, Y.; WANG, B. Evaluation of 28 marine algae from the Qingdao coast for antioxidative capacity and determination of antioxidant efficiency and total phenolic content of fractions and subfractions derived from *Symphyclocladia latiuscula* (Rhodomelaceae). **Journal of Applied Phycology**, v. 19, n. 2, p. 97–108, 2007.

ZHENG, Y.; CHEN, Y.; LU, H. Screening for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the Fujian coast of China with three different solvents. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 19, n. 4, p. 327-331, 2001.

ZINGG, J.; AZZI, A. Non-antioxidant activities of vitamin E. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 1113-1133, 2004.

## APÊNDICE A – PROCEDIMENTOS CROMATOGRÁFICOS ADOTADOS PARA PURIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS

### 1 CLV DO EXTRATO DJ-I – CLV A e B

Duas alíquotas do extrato DJ-I foram submetidas à cromatografia líquida a vácuo (CLV A = 10,4611 g e CLV B = 11,0458 g) com gel de sílica 60, utilizando-se como fase móvel um gradiente de solventes, conforme Tabela 1. Cada fração foi coletada em frasco separado, obtendo-se um total de 16 frações de cada CLV, chamadas de Fr 1 a Fr 16. Cada uma das frações foi analisada por meio de CCD e RMN de  $^1\text{H}$ , e aquelas que apresentaram perfis químicos semelhantes foram reunidas, conforme Tabela 2.

Tabela 1. Esquema de solventes utilizados na CLV A e B do extrato DJ-I.

Frações	Fase móvel	Volume (mL)
1	n-Hex 100 %	400
2	n-Hex 95:5 AcOEt	200
3	n-Hex 9:1 AcOEt	200
4	n-Hex 85:5 AcOEt	200
5	n-Hex 8:2 AcOEt	200
6	n-Hex 8:2 AcOEt	200
7	n-Hex 7:3 AcOEt	200
8	n-Hex 6:4 AcOEt	200
9	n-Hex 1:1 AcOEt	200
10	n-Hex 1:2 AcOEt	200
11	AcOEt 100 %	200
12	AcOEt 9:1 MeOH	200
13	AcOEt 1:1 MeOH	400
14	MeOH 100 %	400
15	MeOH 9:1 H <sub>2</sub> O	200
16	H <sub>2</sub> O	1000

Tabela 2. Frações reunidas da CLV A e B do extrato DJ-I.

<b>Frações reunidas</b>	<b>Frações CLV A</b>	<b>Frações CLV B</b>
DJ-I-A	Fr 1, Fr 3	Fr 1-2
DJ-I-B	Fr 2	-
DJ-I-C	-	Fr 3-4
DJ-I-D	Fr 4-6	Fr 5-6
DJ-I-E	Fr 7	Fr 7
DJ-I-F	Fr 8-9	Fr 8-9
DJ-I-G	Fr 10	Fr 10
DJ-I-H	Fr 11	Fr 11
DJ-I-I	-	Fr 12
DJ-I-J	Fr 12-16	Fr 13-16

## 1.2 COLUNAS ABERTAS (J1C)

### 1.2.1 Coluna J1C1 (fração DJ-I-D)

A fração DJ-I-D (1.739,9 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 380 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 30 frações, chamadas de J1C1-1-17 a J1C1-356-380.

### 1.2.2 Coluna J1C2 (fração DJ-I-E)

A fração DJ-I-E (1.931,0 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 313 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 20 frações, chamadas de J1C2-1-13 a J1C2-303-313.

### 1.2.3 Coluna J1C3 (fração J1C1-105-122)

A fração J1C1-105-122 (92,6 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 166 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 7 frações, chamadas de J1C3-6-10 a J1C3-158-166.

#### **1.2.4 Coluna J1C4 (fração J1S1-14-29)**

A fração J1S1-14-29 (77,4 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, um sistema isocrático de diclorometano. Obtiveram-se 46 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 8 frações, chamadas de J1C4-1-3 a J1C4-46.

#### **1.2.5 Coluna J1C5 (fração J1C1-152-157)**

A fração J1C1-152-157 (34,5 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, um sistema isocrático de diclorometano. Obtiveram-se 49 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 11 frações, chamadas de J1C5-11 a J1C5-49.

#### **1.2.6 Coluna J1C6 (fração J1C4-20-32)**

A fração J1C4-20-32 (19,1 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, um sistema isocrático de diclorometano. Obtiveram-se 16 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 5 frações, chamadas de J1C6-1 a J1C6-10-16.

#### **1.2.7 Coluna J1C7 (fração J1C1-60-64)**

A fração J1C1-60-64 (179,8 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 120 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 12 frações, chamadas de J1C7-1-13 a J1C7-113-120.

#### **1.2.8 Coluna J1C8 (fração J1C1-233-269)**

A fração J1C1-233-269 (54,5 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de

sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 101 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 17 frações, chamadas de J1C8-1-6 a J1C895-101.

### **1.2.9 Coluna J1C9 (fração J1C1-208-232)**

A fração J1C1-208-232 (57,4 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 145 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 15 frações, chamadas de J1C9-1-14 a J1C9-143-145.

### **1.2.10 Coluna J1C10 (fração J1C1-270-313)**

A fração J1C1-270-313 (53,0 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 92 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 24 frações, chamadas de J1C9-1-14 a J1C9-143-145.

### **1.2.11 Coluna J1C11 (fração J1C1-72-74)**

A fração J1C1-72-74 (133,9 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 70 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 5 frações, chamadas de J1C11-1-29 a J1C11-70.

### **1.2.12 Coluna J1C12 (fração J1C2-33-45)**

A fração J1C2-33-45 (28,0 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 52 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 8 frações, chamadas de J1C12-1-36 a J1C12-53.

### **1.2.13 Coluna J1C13 (frações J1C1-76-81 + J1C1-82-85 + J1C1-86-104 + J1C11-30-46)**

As frações J1C1-76-81 (29,5 mg), J1C1-82-85 (41,6 mg), J1C1-86-104 (295,9 mg) e J1C11-30-46 (62,5 mg) foram reunidas e submetidas a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de c-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 90 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 9 frações, chamadas de J1C13-1-36 a J1C13-80-90.

### **1.2.14 Coluna J1C14 (CLV-C-3)**

A fração CLV-C-3 (337,8 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 50 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 13 frações, chamadas de J1C14-1-9 a J1C14-50.

### **1.2.15 Coluna J1C15 (J1C14-12-14)**

A fração J1C14-12-14 (161,3 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 45 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 8 frações, chamadas de J1C15-1-14 a J1C15-45.

### **1.2.16 Coluna J1C16 (J1C14-20-27)**

A fração J1C14-20-27 (22,5 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 24 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 5 frações, chamadas de J1C16-1-6 a J1C16-20-24.

### **1.2.17 Coluna J1C17 (CLV-C-4-5)**

A fração CLV-C-4-5 (478,8 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 175 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 17 frações, chamadas de J1C17-1-9 a J1C17-175.

### **1.2.18 Coluna J1C18 (J1C17-139-149)**

A fração J1C17-139-149 (43,9 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 56 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 6 frações, chamadas de J1C18-1-5 a J1C18-50-56.

### **1.2.19 Coluna J1C19 (J1C17-106-138)**

A fração J1C17-106-138 (79,1 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 24 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 7 frações, chamadas de J1C19-3-5 a J1C19-18-24.

### **1.2.20 Coluna J1C20 (J1C17-69-105)**

A fração J1C17-69-105 (154,7 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 24 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 3 frações, chamadas de J1C20-1-9 a J1C20-16-24.

### **1.2.21 Coluna J1C21 (CLV-C-6)**

A fração CLV-C-6 (409,8 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 67 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 16 frações, chamadas de J1C21-1-2 a J1C21-60-67.

### **1.2.22 Coluna J1C22 (J1C21-26-29)**

A fração J1C21-26-29 (94,5 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 47 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 5 frações, chamadas de J1C22-1-15 a J1C22-34-47.

## **1.3 COLUNAS COM RESINA SEPHADEX (J1S)**

### **1.3.1 Coluna J1S1 (fração J1C1-158-177)**

A fração J1C1-158-177 (80,8 mg) foi submetida a cromatografia de exclusão em resina Sephadex<sup>®</sup> LH-20, utilizando-se como eluente diclorometano. Obtiveram-se 30 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança cromatográfica em 2 frações, chamadas de J1S1-14-29 a J1S1-30.

### **1.3.2 Coluna J1S2 (fração J1C1-68-71)**

A fração J1C1-68-71 (56,7 mg) foi submetida a cromatografia de exclusão em resina Sephadex<sup>®</sup> LH-20, utilizando-se como eluente diclorometano. Obtiveram-se 29 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança cromatográfica em 13 frações, chamadas de J1S2-1-11 a J1S2-28.

### **1.3.3 Coluna J1S3 (fração J1C3-36-69)**

A fração J1C3-36-69 (14,2 mg) foi submetida a cromatografia de exclusão em resina Sephadex<sup>®</sup> LH-20, utilizando-se como eluente

diclorometano. Obtiveram-se 21 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança cromatográfica em 3 frações, chamadas de J1S3-1-8 a J1S314-21.

#### **1.3.4 Coluna J1S4 (fração C3-70-78)**

A fração J1C3-70-78 (7,5 mg) foi submetida a cromatografia de exclusão em resina Sephadex<sup>®</sup> LH-20, utilizando-se como eluente diclorometano. Obtiveram-se 12 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança cromatográfica em 4 frações, chamadas de J1S1-1 a J1S1-5-12.

#### **1.3.5 Coluna J1S5 (fração J1C3-79-99)**

A fração J1C3-79-99 (12,3 mg) foi submetida a cromatografia de exclusão em resina Sephadex<sup>®</sup> LH-20, utilizando-se como eluente diclorometano. Obtiveram-se 15 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança cromatográfica em 6 frações, chamadas de J1S5-1-8 a J1S5-14-15.

#### **1.3.6 Coluna J1S6 (fração J1S2-16-17)**

A fração J1S2-16-17 (21,0 mg) foi submetida a cromatografia de exclusão em resina Sephadex<sup>®</sup> LH-20, utilizando-se como eluente diclorometano. Obtiveram-se 34 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança cromatográfica em 6 frações, chamadas de J1S6-1-8 a J1S6-32-34.

#### **1.3.7 Coluna J1S7 (fração J1S6-28-31)**

A fração J1S6-28-31 (5,6 mg) foi submetida a cromatografia de exclusão em resina Sephadex<sup>®</sup> LH-20, utilizando-se como eluente diclorometano. Obtiveram-se 19 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança cromatográfica em 2 frações, chamadas de J1S7-1-12 a J1S7-13-19.

#### **1.3.8 Coluna J1S8 (fração J1S2-15)**

A fração J1S2-15 (9,6 mg) foi submetida a cromatografia de exclusão em resina Sephadex<sup>®</sup> LH-20, utilizando-se como eluente

diclorometano. Obtiveram-se 27 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança cromatográfica em 3 frações, chamadas de J1S8-1-9 a J1S8-23-27.

### **1.3.9 Coluna J1S9 (fração J1S2-18-19)**

A fração J1S2-18-19 (9,0 mg) foi submetida a cromatografia de exclusão em resina Sephadex<sup>®</sup> LH-20, utilizando-se como eluente diclorometano. Obtiveram-se 18 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança cromatográfica em 2 frações, chamadas de J1S9-1-9 a J1S9-10-18.

### **1.3.10 Coluna J1S10 (fração J1C20-10-15)**

A fração J1C20-10-15 (13,7 mg) foi submetida a cromatografia de exclusão em resina Sephadex<sup>®</sup> LH-20, utilizando-se como eluente clorofórmio. Obtiveram-se 18 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança cromatográfica em 4 frações, chamadas de J1S10-1-11 a J1S10-16-18.

## **1.4 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (J1ES)**

### **1.4.1 Coluna J1ES1 (fração J1C1-75)**

A fração J1C1-75 (13,4 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 11 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 3 frações, chamadas de J1ES1-1-7 a J1ES1-9-10.

### **1.4.2 Coluna J1ES2 (fração J1C1-142-145)**

A fração J1C1-142-145 (34,8 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 12 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 3 frações, chamadas de J1ES2-7-9 a J1ES2-11-12.

### **1.4.3 Coluna J1ES3 (fração J1S2-14)**

A fração J1S2-14 (10,4 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 11 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 6 frações, chamadas de J1ES3-1-3 a J1ES3-9-11.

### **1.4.4 Coluna J1ES4 (fração J1S2-22-23)**

A fração J1S2-22-23 (2,6 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 6 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 3 frações, chamadas de J1ES4-1-3 a J1ES4-6.

### **1.4.5 Coluna J1ES5 (fração J1S2-21)**

A fração J1S2-21(1,8 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 9 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 3 frações, chamadas de J1ES5-1 a J1ES5-3-9.

### **1.4.6 Coluna J1ES6 (frações J1S6-25-27 + J1S7-13-19)**

As frações J1S6-25-27 (5,4 mg) e J1S7-13-19 (5,6 mg) foram reunidas e submetidas a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 5 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 4 frações, chamadas de J1ES6-1 a J1ES6-4-5.

#### **1.4.7 Coluna J1ES7 (fração J1ES6-2)**

As frações J1ES6-2 (5,6 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 10 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 5 frações, chamadas de J1ES7-1 a J1ES7-5-10.

#### **1.4.8 Coluna J1ES8 (fração J1C1-178-207)**

A fração J1C1-178-207 (40,1 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 6 frações, chamadas de J1ES8-1 a J1ES8-6.

#### **1.4.9 Coluna J1ES9 (frações J1S8-10-22 + J1S9-10-18)**

As frações J1S8-10-22 (18,0 mg) e J1S9-10-18 (10,4 mg) foram reunidas e submetidas a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 6 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em 2 frações, chamadas de J1ES9-1-4 a J1ES9-5-6.

#### **1.4.10 Coluna J1ES10 (fração J1C1-123-141)**

A fração J1C1-123-141 (81,9 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 3 frações, que foram agrupadas em função da sua semelhança no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em 2 frações, chamadas de J1ES10-1-2 a J1ES10-3.

**1.4.11 Coluna J1ES11 (fração J1C1-314-322)**

A fração J1C1-314-322 (8,2 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 4 frações, chamadas de J1ES11-1 a J1ES11-4.

**1.4.12 Coluna J1ES12 (fração J1C1-65-67)**

A fração J1C1-65-67 (11,7 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 4 frações, chamadas de J1ES12-1 a J1ES12-4.

**1.4.13 Coluna J1ES13 (frações J1C8-18-20 + J1C9-105-115 + J1C10-48-60)**

As frações J1C8-18-20 (3,2 mg), J1C9-105-115 (6,4 mg) e J1C10-48-60 (1,9 mg) foram reunidas e submetidas a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 10 frações, denominadas J1ES13-1 a J1ES13-10.

**1.4.14 Coluna J1ES114 (fração J1ES13-8)**

A fração J1ES13-8 (8,1 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 4 frações, chamadas de J1ES14-1 a J1ES14-4.

**1.4.15 Coluna J1ES15 (fração J1C2-14-32)**

A fração J1C2-14-32 (12,2 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções

crecientes de acetato de etila. Obtiveram-se 4 frações, chamadas de J1ES15-1 a J1ES15-4.

#### **1.4.16 Coluna J1ES16 (fração J1C14-15-19)**

A fração J1C14-15-19 (11,4 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 5 frações, chamadas de J1ES16-1 a J1ES16-5.

#### **1.4.17 Coluna J1ES17 (fração J1C15-34-35)**

A fração J1C15-34-35 (17,1 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 6 frações, chamadas de J1ES17-1-3 a J1ES17-6.

#### **1.4.18 Coluna J1ES18 (fração J1C16-10-19)**

A fração J1C16-10-19 (11,0 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 10 frações, chamadas de J1ES18-1-4 a J1ES18-8-10.

#### **1.4.19 Coluna J1ES19 (fração J1ES16-4)**

A fração J1ES16-4 (9,8 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de água com proporções crescentes de metanol. Obtiveram-se 6 frações, chamadas de J1ES19-1-2 a J1ES19-6.

#### **1.4.20 Coluna J1ES20 (fração J1C17-175)**

A fração J1C17-175 (11,5 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel

de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 6 frações, chamadas de J1ES20-1-4 a J1ES20-6.

#### **1.4.21 Coluna J1ES21 (fração J1C17-174)**

A fração J1C17-174 (16,9 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 7 frações, chamadas de J1ES21-1 a J1ES21-7.

#### **1.4.22 Coluna J1ES22 (fração J1C18-39-49)**

A fração J1C18-39-49 (7,1 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 4 frações, chamadas de J1ES22-1-2 a J1ES22-4.

#### **1.4.23 Coluna J1ES23 (fração J1C18-27-38)**

A fração J1C18-27-38 (8,9 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 5 frações, chamadas de J1ES23-1-2 a J1ES23-5.

### **1.5 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (J1CL)**

#### **1.5.1 Coluna J1CL1 (frações J1ES7-2 + J1C4-4-6)**

As frações J1ES7-2 (1,8 mg) e J1C4-4-6 (2,9 mg) foram reunidas para purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10  $\mu\text{m}$ , sendo empregada mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na proporção de 95:5. Obtiveram-se 6 frações, denominadas J1CL1-0 a J1CL1-5.

### **1.5.2 Coluna J1CL2 (frações J1C8-7-9 + J1C9-34-43 + J1C10-9-13)**

As frações J1C8-7-9 (1,8 mg), J1C9-34-43 (2,4 mg) e J1C10-9-13 (1,4 mg) foram reunidas para purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na proporção de 95:5. Obtiveram-se 4 frações, denominadas J1CL2-0 a J1CL2-3.

### **1.5.3 Coluna J1CL3 (frações J1C1-146-148 + J1C1-149-151)**

As frações J1C1-146-148 (16,5 mg) e J1C1-149-151 (18,9 mg) foram reunidas para purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na proporção de 9:1. Obtiveram-se 4 frações, denominadas J1CL3-0 a J1CL3-3.

### **1.5.4 Coluna J1CL4 (fração J1ES10-1-2)**

A fração J1ES10-1-2 (63,2 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na proporção de 92:8. Obtiveram-se 8 frações, denominadas J1CL4-0 a J1CL4-7.

### **1.5.5 Coluna J1CL5 (fração J1ES9-1-4)**

A fração J1ES9-1-4 (11,3 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na proporção de 96:4. Obtiveram-se 6 frações, denominadas J1CL5-0 a J1CL5-5.

### **1.5.6 Coluna J1CL6 (fração J1ES12-3)**

A fração J1ES12-3 (7,4 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na

proporção de 9:1. Obtiveram-se 5 frações, denominadas J1CL6-0 a J1CL6-4.

#### **1.5.7 Coluna J1CL7 (fração J1ES13-2-3)**

A fração J1ES13-2-3 (5,9 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na proporção de 93:7. Obtiveram-se 5 frações, denominadas J1CL7-0 a J1CL6-4.

#### **1.5.8 Coluna J1CL8 (fração J1C12-51-52)**

A fração J1C12-51-52 (13,6 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 92:8. Obtiveram-se 2 frações, denominadas J1CL8-1 a J1CL8-2.

#### **1.5.9 Coluna J1CL9 (fração J1CL4-4)**

A fração J1CL4-4 (7,5 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 95:5. Obtiveram-se 3 frações, denominadas J1CL9-1 a J1CL9-3.

#### **1.5.10 Coluna J1CL10 (fração J1CL4-5)**

A fração J1CL4-5 (6,1 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 95:5. Obtiveram-se 2 frações, denominadas J1CL10-1 a J1CL10-2.

#### **1.5.11 Coluna J1CL11 (fração J1C14-52-56)**

A fração J1C14-52-56 (65,9 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na

proporção de 96:4. Obtiveram-se 6 frações, denominadas J1CL11-0 a J1CL11-5.

#### **1.5.12 Coluna J1CL12 (fração J1C14-57-58)**

A fração J1C14-57-58 (26,7 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 96:4. Obtiveram-se 5 frações, denominadas J1CL12-0 a J1CL12-3.

#### **1.5.13 Coluna J1CL13 (fração J1CL11-5)**

A fração J1CL13-5 (2,9 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na proporção de 95:5. Obtiveram-se 2 frações, denominadas J1CL13-1 a J1CL13-2.

#### **1.5.14 Coluna J1CL14 (fração J1CL11-4)**

A fração J1CL11-4 (2,6 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na proporção de 95:5. Obtiveram-se 3 frações, denominadas J1CL14-1 a J1CL14-3.

#### **1.5.15 Coluna J1CL15 (frações J1CL1-3-4 + J1CL5-4 + J1CL6-3 + J1ES8-3)**

As frações J1CL1-3-4 (2,3 mg), J1CL5-4 (3,4 mg), J1CL6-3 (1,1 mg) e J1ES8-3 (4,6 mg) foram reunidas e submetidas a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na proporção de 96:4. Obtiveram-se 2 frações, denominadas J1CL15-1 a J1CL15-2.

**1.5.16 Coluna J1CL16 (frações J1CL2-3 + J1CL4-2 + J1CL-3 + J1C9-15-19 + J1C10-5-6)**

As frações J1CL2-3 (0,6 mg), J1CL4-2 (2,0 mg), J1CL-3 (2,1 mg), J1C9-15-19 (3,3 mg) e J1C10-5-6 (3,0 mg) foram reunidas e submetidas a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes n-hexano e acetato de etila na proporção de 96:4. Obtiveram-se 6 frações, denominadas J1CL16-0 a J1CL16-5.

**1.5.17 Coluna J1CL17 (fração J1ES21-4)**

A fração J1ES21-4 (2,5 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 8:2. Obtiveram-se 3 frações, denominadas J1CL17-1 a J1CL17-3.

**1.5.18 Coluna J1CL18 (fração J1ES21-6)**

A fração J1ES21-6 (3,3 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 7:3. Obtiveram-se 2 frações, denominadas J1CL18-1 a J1CL18-2.

**2 CLV DO EXTRATO DP-VII – CLV A**

O extrato DP-VII (4.439,00 mg) foi submetido à cromatografia líquida a vácuo com gel de sílica 60, utilizando-se como fase móvel um gradiente de solventes, conforme Tabela 3. Cada fração foi coletada em frasco separado, obtendo-se um total de 13 frações de cada CLV, chamadas de Fr 1 a Fr 13.

Tabela 3. Esquema de solventes utilizados na CLV A do extrato DP-VII.

Frações	Fase móvel	Volume (mL)
1	n-Hex 100 %	400
2	n-Hex 95:5 AcOEt	200
3	n-Hex 9:1 AcOEt	200
4	n-Hex 85:5 AcOEt	200
5	n-Hex 8:2 AcOEt	200
6	n-Hex 8:2 AcOEt	200
7	n-Hex 7:3 AcOEt	200
8	n-Hex 6:4 AcOEt	200
9	n-Hex 1:1 AcOEt	200
10	n-Hex 1:2 AcOEt	200
11	AcOEt 100 %	200
12	AcOEt 9:1 MeOH	200
13	MeOH 100 %	400

## 2.1 COLUNAS ABERTAS (P7C)

### 2.1.1 Coluna P7C1 (fração DP7-3)

A fração DP7-3 (794,3 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de c-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 107 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 9 frações, chamadas de P7C1-1-63 a P7C1-107.

### 2.1.2 Coluna P7C2 (fração DP7-4)

A fração DP7-4 (220,7 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de c-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 13 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 4 frações, chamadas de P7C2-1-8 a P7C2-13.

### 2.1.3 Coluna P7C3 (fração P7C2-13)

A fração P7C2-13 (168,8 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de c-hexano com proporções

crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 6 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 4 frações, chamadas de P7C3-1-2 a P7C3-6.

#### **2.1.4 Coluna P7C4 (Frações reunidas do extrato DP-VII)**

A amostra correspondente às frações reunidas do extrato DP-VII (635,8 g) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de c-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 58 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 9 frações, chamadas de P7C4-1-17 a P7C4-58.

### **2.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (P7ES)**

#### **2.2.1 Coluna P7ES1 (fração P7C1-107)**

A fração P7C1-107 (20,7 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 5 frações, chamadas de P7ES1-1 a P7ES1-4.

#### **2.2.2 Coluna P7ES2 (fração P7C4-8-17)**

A fração P7C4-8-17 (446,0 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de água com com proporções crescentes de metanol. Obtiveram-se 4 frações, chamadas de P7ES2-1 a P7E21-4. A amostra P7C4-8-17 foi dividida em quatro alíquota e este procedimento foi realizado separadamente para cada uma delas, sendo as amostras semelhantes reunidas ao final.

#### **2.2.3 Coluna P7ES3 (fração P7ES2-1)**

A fração P7ES2- 1(12,3 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de água com com proporções

crecentes de metanol. Obtiveram-se 4 frações, chamadas de P7ES3-1 a P7ES3-4.

#### **2.2.4 Coluna P7ES4 (fração P7ES3-2)**

A fração P7ES3- 2(6,3 mg) foi submetida a técnica de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos contendo como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de água com com proporções crescentes de metanol. Obtiveram-se 4 frações, chamadas de P7ES4-1 a P7ES4-4.

### **2.3 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (J1CL)**

#### **2.3.1 Coluna P7CL1 (fração P7C1-96-105)**

A fração P7C1-96-105 (34,8 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 92:8. Obtiveram-se 6 frações, denominadas P7CL1-0 a P7CL1-5.

#### **2.3.2 Coluna P7CL2 (fração P7C1-89-95)**

A fração P7C1-89-95 (17,1 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 92:8. Obtiveram-se 4 frações, denominadas P7CL2-0 a P7CL2-2, incluindo o resíduo.

#### **2.3.3 Coluna P7CL3 (fração P7CL2-resíduo)**

O resíduo da P7CL2 (6,1 mg) foi submetido a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 92:8. Obtiveram-se 5 frações, denominadas P7CL3-1 a P7CL3-5.

### **2.3.4 Coluna P7CL4 (fração P7C1-106)**

A fração P7C1-106 (21,1 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 92:8. Obtiveram-se 5 frações, denominadas P7CL4-0 a P7CL4-4.

### **2.3.5 Coluna P7CL5 (fração P7CL4-1)**

A fração P7CL4-1 (1,3 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 92:8. Obtiveram-se 2 frações, denominadas P7CL5-0 a P7CL5-1.

### **2.3.6 Coluna P7CL6 (fração P7ES1-1)**

A fração P7ES1-1 (4,7 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 85:15. Obtiveram-se 2 frações, denominadas P7CL6-0 a P7CL6-1.

### **2.3.7 Coluna P7CL7 (fração P7ES1-2)**

A fração P7ES1-2 (4,2 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 85:15. Obtiveram-se 2 frações, denominadas P7CL7-1 a P7CL7-2.

### **2.3.8 Coluna P7CL8 (fração P7ES1-3)**

A fração P7ES1-3 (2,3 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 85:15. Obtiveram-se 3 frações, denominadas P7CL8-1 a P7CL8-3.

### **2.3.9 Coluna P7CL9 (fração P7C2-9-12)**

A fração P7C2-9-12 (25,1 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 8:2. Obtiveram-se 4 frações, denominadas P7CL9-0 a P7CL9-3.

### **2.3.10 Coluna P7CL10 (fração P7CL9-1)**

A fração P7CL9-1 (5,8 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 85:15. Obtiveram-se 3 frações, denominadas P7CL10-1 a P7CL10-3.

### **2.3.11 Coluna P7CL11 (fração P7CL9-0)**

A fração P7CL9-0 (13,2 mg) foi submetida a purificação por meio de CLAE, utilizando-se como fase estacionária coluna de sílica 10 µm, sendo empregada mistura dos solventes c-hexano e acetato de etila na proporção de 9:1. Obtiveram-se 3 frações, denominadas P7CL11-1 a P7CL11-2, incluindo o resíduo.

## **3 CLV DO EXTRATO DJ-VII – CLV A**

O extrato DJ-VII (1.471,00 mg) foi submetido à cromatografia líquida a vácuo com gel de sílica 60, utilizando-se como fase móvel um gradiente de solventes, conforme Tabela 3. Cada fração foi coletada em frasco separado, obtendo-se um total de 13 frações de cada CLV, chamadas de Fr 1 a Fr 13.

Tabela 3. Esquema de solventes utilizados na CLV A do extrato DJ-VII.

Frações	Fase móvel	Volume (mL)
1	n-Hex 100 %	400
2	n-Hex 95:5 AcOEt	200
3	n-Hex 9:1 AcOEt	200
4	n-Hex 85:5 AcOEt	200
5	n-Hex 8:2 AcOEt	200
6	n-Hex 8:2 AcOEt	200
7	n-Hex 7:3 AcOEt	200
8	n-Hex 6:4 AcOEt	200
9	n-Hex 1:1 AcOEt	200
10	n-Hex 1:2 AcOEt	200
11	AcOEt 100 %	200
12	AcOEt 9:1 MeOH	200
13	MeOH 100 %	400

### 3.1 COLUNAS ABERTAS (J7C)

#### 3.1.1 Coluna J7C1 (fração DJ-VII-7)

A fração DJ-VII-7 (66,6 mg) foi submetida a separação cromatográfica em coluna aberta. Utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 e, como fase móvel, misturas de n-hexano com proporções crescentes de acetato de etila. Obtiveram-se 60 frações que foram agrupadas, em função da sua semelhança cromatográfica, em 17 frações, chamadas de J7C1-1 a P7C1-60.

### 3 CLV DOS EXTRATOS DJ-VI, DJ-VII, DJ-VIII, DJ-IX, DJ-X, DJ-XI, DP-I, DP-II/IV, DP-III, DP-V, DP-VI

O extratos DJ-VI (3,052 g), DJ-VII (1,471 g), DJ-VIII (21,593 g), DJ-IX (3,660 g), DJ-X (7,923 g), DJ-XI (6,881 g), DP-I (3,349 g), DP-II-IV (1,652 g), DP-III (1,046 g), DP-V (1,756 g), DP-VI (1,490 g), DP-IX (4,438 g) e DP-X (3,835 g) foram submetidos à cromatografia líquida a vácuo com gel de sílica 60 separadamente, utilizando-se como fase móvel um gradiente de solventes, conforme Tabela 4. Cada fração foi coletada em frasco separado, obtendo-se um total de 13 frações de cada CLV, chamadas de Fr 1 a Fr 13. Cada uma das frações foi analisada por meio de CCD e RMN de <sup>1</sup>H.

Tabela 4. Esquema de solventes utilizados na CLV dos extratos DJ-VI, DJ-VII, DJ-VIII, DJ-IX, DJ-X, DJ-XI, DP-I, DP-II/IV, DP-III, DP-V, DP-VI.

<b>Frações</b>	<b>Fase móvel</b>	<b>Volume (mL)</b>
Fr 1	n-Hex 100 %	400
Fr 2	n-Hex 95:5 AcOEt	200
Fr 3	n-Hex 9:1 AcOEt	200
Fr 4	n-Hex 85:5 AcOEt	200
Fr 5	n-Hex 8:2 AcOEt	200
Fr 6	n-Hex 8:2 AcOEt	200
Fr 7	n-Hex 7:3 AcOEt	200
Fr 8	n-Hex 6:4 AcOEt	200
Fr 9	n-Hex 1:1 AcOEt	200
Fr 10	n-Hex 1:2 AcOEt	200
Fr 11	AcOEt 100 %	200
Fr 12	AcOEt 9:1 MeOH	200
Fr 13	MeOH 100 %	400



## APÊNDICE B – TRABALHOS PRODUZIDOS COMO RESULTADO DA TESE

### 1 ARTIGOS

**ZATELLI, G. A.**; PHILIPPUS, A. C.; FALKENBERG, M. B. An overview of odoriferous marine seaweeds of the *Dictyopteris* genus: insights into their chemical diversity, biological potential and ecological roles. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28 n. 2, p. 243-260, 2018.

PHILIPPUS, A. C.; **ZATELLI, G. A.**; WANKE, T.; BARROS, M. G. A.; KAMI, S. A.; LHULLIER, C.; ARMSTRONG, L.; SANDJO, L. P.; FALKENBERG, M. Molecular networking prospecting and characterization of terpenoids and C<sub>15</sub>-acetogenins in Brazilian seaweed extracts. **RSC Advances**, v. 8, n. 52, p. 29654-29661, 2018.

SYRACUSE, S. M.; **ZATELLI, G. A.**; MEYER, N. M.; PHILIPPUS, A. C.; SILVA, M. C. S.; IOANNOU, E.; ROUSSIS, V.; FALKENBERG, M. B.; MORAES, A. C. R. Antiplatelet effects of disulfides isolated from the marine brown algae *Dictyopteris jolyana*. Em finalização da escrita.

### 2 TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS

CAMARGO, C.; **ZATELLI, G. A.**; WOPEREIS, D.; BUCHELE, M. L. C.; ROTT, M.; FALKENBERG, M. B.; CAUMO, K. S. Activity assessment of ethanolic extract of brown algae *Dictyopteris jolyana* against the trophozoite stage of *Acanthamoeba castellanii*. XXV Congresso Brasileiro de Parasitologia, Búzios, 2017.

KAMI, S. A.; BARROS, M. G. A.; PHILIPPUS, A. C.; **ZATELLI, G. A.**; SANDJO, L.; ARMSTRONG, L.; FALKENBERG, M. B. Molecular networking and spectral techniques for isolation and structure identification of compounds from seaweeds. 6rd Brazilian Conference on Natural Products, Vitória, 2017. (**Prêmio de melhor pôster**)

KAMI, S. A.; PHILIPPUS, A. C.; **ZATELLI, G. A.**; RANGEL, M.; FALKENBERG, M. B. Antimicrobial activity of brown algae extracts from the Brazilian coast. XV International Symposium on Marine Natural Products, Fortaleza, 2016.

- SYRACUSE, S. M.; SOUZA, R.; PHILIPPUS, A. C.; **ZATELLI, G. A.**; HORTA, P. A.; FALKENBERG, M. B.; MORAES, A. C. R. Efeito de extratos brutos de algas dos gêneros *Dictyota* e *Dictyopteris* sobre a hemostasia humana. Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, Curitiba, 2017.
- WANKE, T.; **ZATELLI, G. A.**; KAMI, S. A.; BARROS, M. G. A.; PHILIPPUS, A. C.; VIEIRA, L. F. O.; LHULLIER, C.; SANDJO, L. P.; ARMSTRONG, L.; FALKENBERG, M. B. Molecular networking applied to dereplication of algal extracts from Brazilian Islands. 10th European Conference on Marine Natural Products, Creta, 2017.
- ZATELLI, G. A.**; PHILIPPUS, A. C.; SISSINI, M.; HORTA, P. A.; FLORENCIO, K. G. D.; WILKE, D.; FALKENBERG, M. B. Disulfides from the brown alga *Dictyopteris jolyana* collected from the brazilian Oceanic Archipelago Fernando de Noronha. XV International Symposium on Marine Natural Products, Fortaleza, 2016.
- ZATELLI, G. A.**; SYRACUSE, S. M.; PHILIPPUS, A. C.; SISSINI, M.; HORTA, P. A.; MORAES, A. C. R.; FALKENBERG, M. B. Antithrombotic and anticoagulant activity of the Brazilian brown alga *Dictyopteris jolyana*. 10th European Conference on Marine Natural Products, Creta, 2017.
- ZATELLI, G. A.**; SYRACUSE, S. M.; PHILIPPUS, A. C.; SISSINI, M.; HORTA, P.; MORAES, A. C. R.; FALKENBERG, M. B. Isolation and identification of a disulfide from the Brazilian brown algae *Dictyopteris jolyana* and its antithrombotic activity. II Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2017.
- ZATELLI, G. A.**; PHILIPPUS, A. C.; NUNES, V. A.; IOANNOU, E.; ROUSSIS, V.; FALKENBERG, M. B. Compostos contendo enxofre isolados da alga parda *Dictyopteris plagiogramma* coletada em Atol das Rocas (Brasil). I Simpósio Sul-Brasileiro de Farmacognosia, Blumenau, Blumenau, 2018. (**Prêmio de melhor trabalho**)
- ZATELLI, G. A.**; PHILIPPUS, A. C.; FLORENCIO, K. G. D. WILKE, D.; FALKENBERG, M. B. Investigação química e avaliação da atividade citotóxica de algas pardas do gênero *Dictyopteris* provenientes de Ilhas Oceânicas Brasileiras. XII Simpósio Brasileiro de Farmacognosia, Petrópolis, 2019. (**Prêmio de melhor trabalho**)