

4.03.01 - Farmácia / Farmacotecnia

POTENCIAL FOTOPROTETOR DE EXTRATOS E SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DA ALGA *MONOSTROMA HARIOTII* E DE FUNGO ENDOFÍTICO ASSOCIADO

Gabriela T. Amaral¹, Renata S. N. Tavares², Pio Colepicolo Neto³, Hosana M. Debonisi⁴, Lorena R. G. Cordeiro⁵

1. Estudante de IC da Fac. De Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-FCFRP-USP;

gabriela.timotheo.amaral@usp.br

2. Estudante de Pós Graduação do Lab. de Tecnologia de Cosméticos, FCFRP-USP, Ribeirão Preto/SP

3. Pesquisador do Depto. de Bioquímica, IQ-USP, São Paulo/SP

4. Pesquisadora do Depto. de Física e Química-NPPNS, FCFRP-USP, Ribeirão Preto/SP

5. Pesquisadora Depto. de Ciências Farmacêuticas, FCFRP-USP, Ribeirão Preto/SP

Resumo:

A radiação ultravioleta (UV) pode provocar diversos danos sobre a pele, sendo que o uso de filtros solares é capaz de prevenir ou reduzir a extensão dos danos provocados por essa radiação. Adversidades do ambiente antártico relacionadas, principalmente, a exposição solar, aumentam a produção de metabólitos secundários que podem absorver/refletir os raios solares, ou agir como antioxidantes. Tais moléculas podem ser produzidas pelas próprias algas ou por fungos endofíticos à elas associados. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar o potencial fotoprotetor de extratos, frações e compostos isolados da alga *Monostroma hariotii*, originária da Antártica e do fungo endofítico *Aspergillus sydowii*. Para tal, foram obtidos os extratos e frações da alga e fungo em estudo os quais foram analisados quanto a absorção no UV/VIS por espectrofotometria e posteriormente foram à irradiação em lâmpada UVA, para avaliar a fotodegradação e a fototoxicidade.

Palavras-chave: *Monostroma hariotii*; *Aspergillus sydowii*; fotoproteção

Apoio financeiro: CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: USP

Introdução:

A radiação UV, proveniente dos raios solares, é a principal responsável pelo desenvolvimento de tumores cutâneos do tipo não melanoma, que é o tipo de neoplasia mais incidente no Brasil e de maior prevalência no mundo (INCA, 2015; SBD, 2015). Além disso, o Brasil está situado em uma região com alta incidência de raios UV, o que aumenta o risco de reações imediatas ou tardias, como eritemas, bronzeamento e tumores cutâneos (SBCD, 2016).

Produtos naturais marinhos (PNM) têm sido bastante utilizados em formulações fotoprotetoras por apresentarem ação antioxidante e de filtro biológico.

O continente Antártico é considerado um dos mais severos ecossistemas do mundo, com alta incidência de radiação solar. Assim, a produção de compostos fotoprotetores, como carotenóides e micospirinas pode ser uma estratégia para sobreviver nestas condições extremas (VAZ, 2011).

A alga *Monostroma hariotii* é uma espécie com ocorrências na Argentina, Ilhas Falkland e Ilhas Antárticas (OLIVEIRA et al., 2009). Estudos demonstraram que a macroalga endêmica *M. hariotii* abriga uma elevada diversidade de espécies fúngicas, algumas delas capazes de produzir compostos antivirais e antifúngicos. A partir desta alga foi isolado um fungo endofítico, identificado como *Aspergillus sydowii*.

O fungo endofítico *Aspergillus sydowii* é um fungo saprófita marinho, essencialmente terrestre, porém devido à tolerância ao sal, tem a capacidade de crescer nas águas do mar (HALEGRAEFF et al, 2014); é contaminante de alimentos e um patógeno oportunista para os seres humanos (YILDIRIM, KURU; 2016). No entanto, quanto à prospecção de PNM deste endófito, pouco se sabe.

Alguns PNM podem ser instáveis e por isso, estudos de segurança são requeridos. No caso da busca de novos compostos

fotoprotetores, a fotoestabilidade é uma técnica bastante utilizada na pesquisa e desenvolvimento de novos produtos. Além da fotoestabilidade, outros parâmetros de segurança são necessários para o registro de produtos cosméticos de uso tópico. Deve ser considerada, ainda, uma potencial interação com a radiação UV e a produção de irritação, sensibilização, toxicidade ou carcinogenicidade fotoinduzidas (HAYDEN et al., 2003). Dentre eles, o método *in vitro* 3T3 NRU PT é recomendado pela OECD para a avaliação fototoxicidade (OECD 2004).

Metodologia:

Para a obtenção do extrato bruto da alga *Monostroma hariotii*, o material recém-descongelado foi lavado com água destilada e fragmentado. Os fragmentos foram extraídos em solvente orgânico $\text{Cl}_2\text{CH}_2/\text{MeOH}$ (2:1) por 30 min sob agitação, em temperatura controlada. O extrato foi então filtrado e concentrado em evaporador rotativo. Este extrato foi posteriormente fracionado por meio de cromatografia em coluna clássica, e subfracionado por CLAE semi-preparativa. À fim de se obter o extrato bruto do fungo endofítico *Aspergillus sydowii*, 10 discos da placa PDB contendo o fungo endofítico foram transferidos para *Erlenmeyers* contendo meio arroz (90 g). Adicionou-se então 90 mL de água do mar, e estes foram cultivados por 28 dias. Após este período, à cada um dos *Erlenmeyers* foram adicionados $\text{Cl}_2\text{CH}_2/\text{MeOH}$ (2:1), e, após 24 h, o material foi extraído em ultrassom e filtrado. O extrato orgânico foi então concentrado em evaporador rotativo.

Todos os extratos e frações foram analisados quanto a absorção no UV/VIS por espectrofotometria e posteriormente foram submetidos à irradiação em lâmpada UVA, para avaliar a fotodegradação (Gaspar; Maia Campos, 2006). Aqueles que apresentaram significativa absorção na região do UVA/UVB e baixa fotodegradação foram selecionados para o teste de fototoxicidade (3T3 NRU PT), conforme OECD TG 432 (2004). De acordo com o protocolo, uma substância é considerada fototóxica se MPE é $> 0,15$ (OECD, 2004; Gaspar et al., 2013).

Resultados e Discussão:

O extrato da alga *M. hariotii* apresentou absorção na região de interesse para a fotoproteção. Este extrato foi fracionado, e duas frações de maior absorção foram unidas e subfracionadas, pois ambas apresentaram perfil de eluição muito semelhante. A subfração 1 apresentou absorção significativa

na região do UVB e UVA, porém foi considerada fotoinstável e também cito (IC - UV 52,9 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e fototóxica (MPE: 0,700). O extrato de *A. sydowii*, também apresentou absorção nesta região, porém apresentou alta fotodegradação, sendo considerado fotoinstável e ainda, fototóxico (MPE: 0,495). Em estudos posteriores, o extrato de *A. sydowii* e a subfração 1 de *M. hariotii* serão subfracionados para identificar os compostos com atividade fotoprotetora e os responsáveis por sua fototoxicidade.

Conclusões:

A subfração 1 da alga antártica *M. hariotii* apresentou alta absorção na região do UVA e UVB, porém foi considerada fotoinstável, além de cito e fototóxica. O extrato do fungo endofítico *A. sydowii* apresentou absorção significativa na região de interesse para a fotoproteção e, assim, apresenta substâncias que podem ser utilizadas como ativos em fotoprotetores. Entretanto, este extrato apresentou elevada fotodegradação e foi considerado fototóxico.

Referências bibliográficas

- GASPAR, L.R.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Evaluation of the photostability of different UV filters associations in a sunscreen. *Int J Pharm*, v.307, n.2, p.123-128, 2006.
- GASPAR, L. R.; THARMANN, J.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G., LIEBSCH, M.; Skin phototoxicity of cosmetic formulations containing photounstable and photostable UV-filters and vitamin A palmitate. *Toxicology in Vitro* 27, p.418–425, 2013.
- OECD (2004), Test No. 432: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, Radiação solar; Exposição excessiva: acesso em 16 de janeiro de 2015: http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?ID=21
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA – SBD - O que é o câncer de pele: acesso em 16 de janeiro de 2015
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA DERMATOLÓGICA – SBDC <https://www.sbdc.org.br/pagina/1715>. Acesso em 10/02/2016.
- VAZ, A.B.M.; ROSA, L.H.; VIEIRA, M.L.A.; GARCIA, V.; BRANDÃO, L.R.; TEIXEIRA, L.C.R.S.; MOLINÉ, M.; LIBKING, D.; BROOCK, M.V.; ROSA, C.A. The diversity extracelular enzymatic activities and photoprotective compounds of yeasts isolated

in Antarctica. Brazilian Journal of Microbiology ,42: 937-947, 2011.

OLIVEIRA, E.C.; ABSHER, T.M.; PELLIZZARI, F.M.; OLIVEIRA, M.C. The seaweed flora of Admiralty Bay, King George Island, Antarctic. Polar Biology, v. 32, p. 1639-1647, 2009.

HALLEGRAEFF, G.; COMAN, F.; DAVIES, C.; HAYASHI, A.; DAVID MCLEOD, D.; SLOTWINSKI, A.; WHITTOCK, L.; RICHARDSON, A. J. Australian Dust Storm Associated with Extensive *Aspergillus sydowii* Fungal "Bloom" in Coastal Waters. Appl Environ Microbiol, pág 3315–3320, 2014.

YILDIRIM K.; KURU A. The biotransformation of some steroids by *Aspergillus sydowii* MRC 200653. Journal of Chemical Research, vol. 40 , 78–81, 2016.

HAYDEN, P.J.; AYE HUNIE, S.; JACKSON, G.R.; KUPFER-LAMORE, S.; LAST, T.J.; KLAUSNER, M.; KUBILUS, J. In vitro skin equivalent models for toxicity testing MatTek Corporation, Ashland, MA, U.S.A. Alternative Toxicological Methods, p.229-247, 2003.

LIEBSCH, M.; SPIELMANN, H.; PAPE, W.; KRUL, C.; DEGUERCY, A.; ESKES, C. UV-induced effects. Altern Lab Anim, v.33, p.131-146, 2005