

BIOPROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS PRODUTORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL

BIOPROSPECTING OF MICROORGANISMS PRODUCING BIOACTIVE COMPOUNDS WITH ANTITUMORAL ACTIVITY

JANICÉLLE FERNANDES MORAIS¹, MARIANA YOSHIMOTO², SANDRO AUGUSTO RHODEN³, JOÃO ALENCAR PAMPHILE^{4*}

1. Biomédica, mestranda do curso de Pós-graduação em Biotecnologia Ambiental da Universidade Estadual de Maringá. 2. Bióloga, mestranda do curso de Pós-graduação em Biotecnologia Ambiental da Universidade Estadual de Maringá. 3. Professor Doutor do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular da Universidade Estadual de Maringá. 4. Professor Doutor do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular da Universidade Estadual de Maringá.

* UEM – Universidade Estadual de Maringá. Av. Colombo, 5790, Jardim Universitário, Maringá, Paraná, Brasil. CEP 87020-900. japamphile@uem.br; prof.pamphile@gmail.com

Recebido em 01/12/2013. Aceito para publicação em 11/12/2013

RESUMO

O Brasil possui cerca de 20% da biodiversidade mundial e é fonte inestimável de matérias-primas nas mais diversas áreas. Os microrganismos são úteis na produção de diversas moléculas bioativas, como por exemplo, os compostos com atividade antitumoral. Estes compostos proporcionam melhorias na qualidade de vida do homem acometido pelo câncer, pois são administrados na tentativa de tratar e controlar o desenvolvimento desordenado de células mutadas. Desta forma, os microrganismos são agentes importantes para a indústria farmacêutica como fonte de produtos naturais. Assim, o objetivo desta revisão é fornecer informações sobre a bioprospecção de microrganismos em ambientes diferenciados e a produção de compostos bioativos com atividade antitumoral. A revisão bibliográfica foi realizada em banco de dados como o *Google Acadêmico*, *Pubmed*, *Science Direct*, *Portal Capes* e o *Scielo* utilizando os descritores antitumoral, compostos bioativos e microrganismos.

PALAVRAS-CHAVE: Antitumoral, compostos bioativos, microrganismos.

ABSTRACT

Brazil has about 20% of the global biodiversity and is an invaluable source of materials in several areas. The microorganisms are useful in the production of various bioactive molecules such as, for example, compounds with antitumor activity. These compounds provide improvements in the quality of the life of the people affected by cancer, because are administered in an attempt to treat and control the disordered growth of the mutants cells. Thus, the microorganisms are important agents for the pharmaceutical industry as a source of natural products. The objective of this review is to provide information on bio-

prospecting of microorganisms in different environments and the production of bioactive compounds with antitumor activity. The literature review was performed in the database as *Google Scholar*, *Pubmed*, *Science Direct*, *Portal Capes* and *Scielo* using descriptors antitumor, bioactive compounds and microorganisms.

KEYWORDS: Antitumor, bioactive compounds, microorganisms.

1. INTRODUÇÃO

O câncer é o termo utilizado para descrever um conjunto de mais de 100 doenças, em nível citomolecular, que possui em comum o crescimento desordenado de células que invadem tecidos e órgãos vizinhos, sendo classificados de acordo com a localização primária do tumor e do tecido de origem. Atualmente, esta doença é considerada um problema de saúde pública mundial por seu alto predomínio e por requerer consideráveis investimentos em ações e estratégias para seu controle¹.

O câncer é considerado uma doença fundamentalmente genética, que se desenvolve pelo acúmulo de mutações no DNA celular. Essas mutações podem ser provocadas por agentes mutagênicos físicos e químicos do meio ambiente ou por produtos tóxicos da própria célula como os radicais livres, por exemplo². O desenvolvimento da neoplasia é um processo complexo que ocorre em múltiplos estágios, envolvendo geralmente mais de uma alteração genética³.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que até 2030 sejam previstos 27 milhões de casos incidentes de câncer, 17 milhões de mortes por câncer e 75 milhões

de pessoas vivas, anualmente, convivendo com esta doença. O maior efeito desse aumento vai incidir em países de baixa e média rendas⁴. No Brasil, as estimativas para o ano de 2012, válidas também para o ano de 2013, apontam a ocorrência de aproximadamente 518.510 novos casos de câncer, reforçando a magnitude do problema do câncer no país⁵.

Existem, atualmente, cinco tratamentos para o câncer: radioterapia, cirurgia, técnica de foto-radiação, imunoterapia e quimioterapia⁶. Esta última constitui uma das modalidades de maior escolha para produzir cura, controle e palição. A quimioterapia envolve o uso de substâncias citotóxicas, administradas principalmente por via sistêmica e pode ser classificada de acordo com a sua finalidade, como quimioterapia adjuvante, quimioterapia neoadjuvante, quimioterapia primária, quimioterapia paliativa, monoquimioterapia e poliquimioterapia⁷.

No entanto, apesar da inserção de novos fármacos na terapia contra o câncer, vários tumores sólidos ainda não dispõem de tratamento adequado. Assim, é necessária a busca de novas alternativas medicamentosas para melhorar a eficácia do tratamento de doenças neoplásicas avançadas⁸. Uma das principais áreas estudadas atualmente no mundo é a pesquisa de novos medicamentos com propriedades antitumorais. Várias instituições de pesquisa têm concentrado seus esforços no desenvolvimento de novos fármacos eficazes e seguros empregados no tratamento do câncer⁹.

Os produtos naturais microbianos constituem fontes promissoras para a bioprospecção de novas moléculas com potente aplicação na produção de fármacos. É muito provável que os produtos naturais sejam resultado de interações de organismos entre si e destes com o ambiente, e que estes produtos desempenhem funções nas associações simbióticas gerando vantagens adaptativas e evolutivas. De fato, a investigação de microrganismos vivendo em associações simbióticas com outros organismos, tais como plantas, organismos marinhos, insetos e nematóides vêm sendo mais estudada na busca de novas moléculas com atividade biológica¹⁰. Assim, o objetivo desta revisão é fornecer informações sobre a bioprospecção de microrganismos em ambientes diferenciados e a produção de compostos bioativos com atividade antitumoral.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo de caráter bibliográfico realizado a partir de artigos publicados no período de 1993 a 2013 na literatura científica. Para tal finalidade utilizou-se as bases de dados: *Google Acadêmico*, *Pubmed*, *Science Direct*, *Portal Capes* e o *Scielo*. A seleção dos artigos utilizados na pesquisa envolveu alguns critérios de inclusão, a saber: artigos em língua portuguesa e inglesa que estivessem disponíveis em texto completo, relevante para o tema discutido e que se adequassem aos

seguintes descritores: antitumorais, compostos bioativos e microrganismos. A análise dos dados foi realizada mediante a leitura sistemática e posterior seleção de informações obtidas nos periódicos, incorporados ao estudo de acordo com o tema e objetivos da pesquisa.

3. DESENVOLVIMENTO

Biodiversidade de microrganismos

O Brasil possui cerca de 20% da biodiversidade mundial e é fonte importante de matérias-primas nos mais diversos setores. No entanto, pouco se conhece sobre sua diversidade biológica, as espécies que a compõem e suas relações filogenéticas, inclusive seus microrganismos e suas interações com outros seres¹¹.

Os microrganismos geralmente são vistos como agentes patogênicos, principalmente os fungos e as bactérias. Entretanto, eles também são úteis na produção de substâncias químicas, como antibióticos, antitumorais, imunossuppressores, além de outros oriundos de produtos naturais microbianos¹⁰. Desta forma, os microrganismos são agentes importantes para indústria farmacêutica como fonte de produtos naturais¹².

Grande parte dos produtos utilizados atualmente são derivados de fermentação microbiana ou obtidos a partir de modificações químicas de um produto microbiano, e podem ser utilizados na agricultura, pecuária e também para o ser humano. Entretanto, nem todos os microrganismos são igualmente capazes de produzir metabólitos secundários. Essa capacidade, por sua vez, restringe-se a grupos específicos de bactérias e microrganismos eucarióticos. No grupo dos procariotos incluem os actinomicetos filamentosos, as mixobactérias, as pseudomonas e as cianobactérias e no grupo eucarioto principalmente os fungos filamentosos¹³.

Microrganismos endofíticos

O termo endofítico é utilizado para descrever a microbiota interna das plantas vivas¹⁴. Microrganismos endofíticos são organismos endossimbiontes que não causam sintomas de doenças visíveis em seus hospedeiros^{15,16}. Também podem ser definidos como microrganismos que podem passar parte ou todo o ciclo de vida colonizando assintomaticamente os tecidos internos de plantas vivas¹⁷.

Os microrganismos endofíticos são um grupo ainda pouco estudado em relação à produção de metabólitos secundários com potencial para serem empregados na medicina, na agricultura e na indústria^{18,19}. Entre os microrganismos endofíticos, os fungos são os mais comumente isolados¹⁶. No entanto, há registros de bactérias, protozoários e nematódeos vivendo em associação com plantas¹⁵. Os produtos naturais gerados por esses microrganismos estão sendo investigados para atender à crescente necessidade por novos medicamentos, agentes

quimioterápicos e agroindustriais que sejam efetivos, menos tóxicos e que apresentem menor impacto ambiental²⁰⁻²⁶.

Fungos

Os fungos fazem parte de um grupo de microrganismos encontrados em todos os nichos ecológicos²⁷. Calcula-se que existam em torno de 1,5 milhões de espécies de fungos no mundo, no qual apenas cerca de 69.000 espécies já foram caracterizadas²⁸.

Os fungos desempenham um papel importante na manutenção do equilíbrio dos ecossistemas por meio da decomposição de matéria orgânica, ciclagem e transporte de nutrientes. Além disso, eles possuem grande importância econômica para as indústrias alimentícia, farmacêutica e para a agricultura²⁹.

Os fungos endofíticos podem oferecer determinadas vantagens à planta hospedeira. Eles são reconhecidos como fonte de novas substâncias, chamadas de metabólitos secundários, os quais podem apresentar atividades biológicas relevantes³⁰. Inúmeros medicamentos comercializados e utilizados atualmente são derivados destes metabólitos ou por processos fermentativos realizados por fungos³¹. Esses metabólitos são substâncias de baixo peso molecular que são produzidos pelo microrganismo em resposta às condições ambientais. Acredita-se que esses metabólitos não sejam essenciais ao crescimento do microrganismo, mas que estejam envolvidos em processos de comunicação entre o microrganismo e a planta hospedeira³². São compostos extremamente diversos, com bioquímica única³³.

Os metabólitos secundários já isolados de extratos de fungos endofíticos pertencem a inúmeros grupos estruturais, como: esteróides, xantonas, fenóis, isocumarinas, derivados perilenos, quinonas, furandionas, terpenoides, depsipeptídeos e citocalasinas³⁴. Dentre as funções biológicas de alguns desses compostos pode-se evidenciar as ações antibacteriana, antiviral, antioxidante, antifúngica, anti-helmíntica, antimalárico, antiinflamatório, antituberculose, laxativo, antidiabética, imunossupressora, antitumoral, entre outras¹⁸.

Um exemplo conhecido de medicamento antitumoral é o Taxol, um importante fármaco anticancerígeno produzido pelo fungo endofítico *Taxomyces andreanae*, isolado da planta *Taxus brevifolia*, que também produz esta substância. A Vincristina também é um importante anticancerígeno isolada da planta *Catharanthus roseus* e recentemente isolada do fungo endofítico *Fusarium oxysporum* obtido da mesma planta³⁵. A Podofilotoxina, também utilizada no tratamento de câncer, é encontrada em espécies vegetais do gênero *Podophyllum* e também relatada nos endófitos *Trametes hirsuta* e *Phialocephala fortinii*³⁶.

Há, ainda, outras substâncias com atividade antitumoral, como os alcalóides, compostos comumente en-

contrados em extratos obtidos a partir de fungos endofíticos^{18,20,37}. Alcalóides bem conhecidos são as citocalasinas, que são produzidas por fungos dos gêneros *Xylaria*, *Phoma*, *Hupoxylon*, *Chalara* e *Rhinochadiella* sp. e possuem atividades antitumoral e antibiótica²⁰. Estas substâncias, no entanto, apresentam toxicidade celular e por isso ainda não foram desenvolvidos fármacos a partir dessas moléculas^{18,20,37}. A Tabela 1 mostra alguns exemplos de compostos antitumorais isolados de fungos endofíticos:

Tabela 1. Exemplos de compostos antitumorais isolados de fungos endofíticos.

ENDÓFITO	HOSPEDEIRO	COMPOSTO ATIVO	REFERÊNCIA
<i>Taxomyces andreanae</i>	<i>Taxus brevifolia</i>	Paclitaxel (Taxol)	Stierle et al. (1993) ³⁸
<i>Stemphylium globuliferum</i>	<i>Mentha pulegium</i>	Altersolanol A	Teiten et al. (2013) ³⁹
<i>Trametes hirsuta</i>	<i>Podophyllum hexandrum</i>	Podofilotoxina	Puri et al. (2006) ⁴⁰
<i>Mycelia sterilia</i>	<i>Catharanthus roseus</i>	Vincristina	Yang et al. (2004) ⁴¹

Bactérias

Bactérias endofíticas são uma fonte importante de produtos anticancerígenos naturais. Estes microrganismos são bem conhecidos por serem grandes produtores de compostos bioativos anticancerígenos, incluindo antraciclina, glicopeptídeos, antraquinonas, antimetabólitos, carzinofilina e mitomicinas⁴². Os gêneros de bactérias endofíticas incluem *Bacillus*, *Agrobacterium* e *Pseudomonas* que foram isoladas a partir de plantas agrícolas e macrófitas⁴³.

As bactérias endofíticas são microrganismos que habitam os tecidos vegetais vivos, principalmente no espaço intercelular e dentro dos tecidos vasculares sem prejudicar o hospedeiro⁴⁴. Esses microrganismos colonizam órgãos internos de plantas, incluindo folhas, caules, sementes, tubérculos, frutas, óvulos e as raízes, durante os seus ciclos de vida^{45,46}.

Embora a interação entre esse microrganismo e seu hospedeiro (planta) não seja, ainda, totalmente compreendida, o progresso tem sido feito na aplicação dos metabólitos produzidos por essas bactérias, visto que estes possuem diversas funções biológicas⁴⁷. Atualmente, um número crescente de bactérias endofíticas foram identificadas em ervas medicinais comumente utilizadas como medicamentos tradicionais chineses⁴⁸.

Mais de 22 mil compostos biologicamente ativos foram obtidos a partir de microrganismos até o final de 2002. Entre eles, 45% foram produzidos pela actinobactéria, principalmente o gênero *Streptomyces*³³. As bactérias actinomiceto que residem no tecido de plantas vivas e que não as prejudicam visivelmente são conhecidas como actinobactérias endofíticas¹⁴.

Estudos recentes têm revelado a existência de inúmeras espécies de actinobactérias endofíticas e diversos compostos com funções diferentes⁴⁹. Elas podem atuar como agentes no controle biológico⁵⁰, favorecendo o crescimento das plantas⁵¹ e promovendo o estabelecimento de plantas em condições adversas⁵². Actinobactérias são fontes de produção de novos produtos naturais para a exploração na medicina, agricultura e indústria²⁰.

Actinobactérias endofíticas podem ser isoladas de diversas espécies de plantas saudáveis, desde plantas de cultura como o trigo, arroz, batata, cenoura, tomate e citrinos⁵³, como em diferentes espécies de árvores lenhosas⁵⁴, samambaias e musgos⁵⁵. Em geral, *Streptomyces* sp. foram as espécies predominantes e *Microbispora*, *Micromonospora*, *Nocardioides*, *Nocardia* e *Streptosporangium* são os gêneros mais comuns. Acredita-se que a maior diversidade de endófitos ocorra nas regiões tropicais e temperadas¹⁸. A associação de actinobactérias endofíticas com plantas medicinais, principalmente dos trópicos, pode ser uma rica fonte de metabólitos funcionais²⁰.

Estudos recentes sobre actinobactérias endofíticas resultaram na identificação de diversos novos produtos naturais com atividade biológica antitumoral/anticâncer. Alguns exemplos são listados na Tabela 2.

Tabela 2. Compostos bioativos antitumorais isolados de actinobactérias endofíticas.

ENDÓFITO	HOSPEDEIRO	COMPOSTO ATIVO	REFERÊNCIA
<i>Streptomyces</i> sp. CS	<i>Maytenus hookeri</i>	<i>Naphthomycin</i> K	Lu e Shen (2007) ⁵⁶
<i>Streptomyces laceyi</i>	<i>Ricinus communis</i> L.	<i>Salaceyins</i> A e B	Kim et al. (2006) ⁵⁷
<i>Micromonospora Lupini</i>	<i>Lupinus angustifolius</i>	Lupinacidina A e B	Igarashi et al. (2007) ⁵⁸
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> sp.	<i>Ophiopogon japonicas</i>	Exopolissacarídeo	Chen et al. (2013) ⁵⁹

Bioprospecção de microrganismos a partir dos oceanos

Os sedimentos oceânicos cobrem mais de 70% da superfície da Terra e consistem em um conjunto diversificado de formas de vida, que ocorrem em ambientes com variações extremas de pressão, salinidade e temperatura⁶⁰.

As espécies marinhas, diferentemente do que ocorre com os organismos terrestres, sobrevivem com limitação de nutrientes e limitação/competição pelo espaço sendo necessários mecanismos de defesa para preservação da espécie. Esses mecanismos de defesa, além de recursos de adaptação e preservação, muitas vezes, são compartilhados nos oceanos, como é o caso da simbiose ocorrente entre macro e microrganismos⁶¹. No início da década de 1960 os pesquisadores começaram a ver os oceanos

como uma nova fonte potencialmente útil de compostos⁶². Os estudos realizados a respeito destes compostos demonstraram uma ampla variedade de atividades biológicas com propriedades antibióticas, antifúngicas, antimitóticas e antineoplásicas⁶³.

Microrganismos marinhos incluem bactérias, fungos e microalgas⁶² que podem ser isolados da água do mar, sedimentos, peixes, algas, e principalmente de invertebrados marinhos como esponjas, moluscos, tunicados, celenterados e crustáceos⁶³.

Bactérias

Os actinomicetos são importantes representantes de bactérias produtoras de compostos bioativos e representam o maior grupo de microrganismos produtores de metabólitos³³. Eles constituem um grupo diverso de bactérias Gram-positivas que apresentam elevada concentração de guaninas e citosinas na composição do seu DNA e exibem uma grande variedade morfológica, fisiológica e de propriedades metabólicas que lhes permitem habitar uma ampla variedade de ambientes⁶⁴.

Em relação ao ambiente marinho estudos mostraram que nos últimos dez anos, 659 substâncias bacterianas marinhas foram descritas, das quais 256 foram extraídas de actinobactérias, principalmente dos gêneros *Streptomyces* (57%) e *Salinospora* (28%). Os gêneros *Dietzia*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Salinospora*, *Salinibacterium* e *Marinispora* são alguns dos representantes responsáveis pela produção de substâncias bioativas⁶⁵.

Para assegurarem sua sobrevivência em ambientes inóspitos, as bactérias marinhas desenvolveram capacidades metabólica e fisiológica especializadas que oferecem potencial para a produção de metabólitos inexistentes em ambiente terrestre⁶⁰.

No estudo realizado por Soria-Mercado e colaboradores (2005)⁶⁶ foi observado que actinobactérias do gênero *Streptomyces* apresentaram capacidade de produzir compostos com propriedades antibacterianas significativas além de atividade citotóxica em células cancerígenas em ensaios *in vitro*. Mincer e colaboradores (2002)⁶⁷ concentraram seus estudos de actinomicetos marinhos em estirpes do gênero *Salinospora*. Em um levantamento inicial, esse grupo de pesquisadores cultivou mais de 100 cepas de *Salinospora* spp. e em seguida avaliou as atividades farmacológicas de seus metabólitos secundários. Mais de 80% das cepas foram capazes de inibir o crescimento de células tumorais humanas.

Assim, a partir de resultados encontrados na literatura, as bactérias marinhas mostram-se como prolíficos produtores de metabólitos secundários, já que produzem alguns metabólitos para a sua defesa e estes são fontes de compostos bioativos para uso em terapias humanas⁶⁸. A Tabela 3 mostra alguns tipos de compostos antitumorais produzidos por esse grupo de bactérias.

Tabela 3. Compostos antitumorais derivados de actinomicetos.

COMPOSTO	FONTE	REFERÊNCIA
Cloro-dihidroquinonas	<i>Streptomyces</i> sp.	Soria-Mercado et al. (2005) ⁶⁶
Salinosporamida A	<i>Salinispora tropica</i>	Jensen et al. (2007) ⁶⁹
Diazepinomicina	<i>Micromonospora</i> sp.	Abdelmohsen (2012) ⁷⁰
Marinomicina	<i>Marinispora</i>	Kwon et al. (2006) ⁷¹

Fungos

Dentro do universo dos microrganismos também vale ressaltar os fungos. Estes são microrganismos eucariontes heterotróficos com importante papel na decomposição de tecidos vegetais mortos e em menor grau nos tecidos animais. Embora várias funções ecológicas dos fungos terrestres já foram bem estudadas e descritas, a ecologia dos fungos no ambiente marinho tem sido mais difícil de ser estudada⁷². Entretanto, devido à complexidade dos organismos vivos e a diversidade de espécies, os metabólitos secundários produzidos por organismos marinhos, inclusive os derivados de fungos, apresentam estruturas novas e originais e atividade biológica mais potente do que os originados por organismos terrestres. Uma série de metabólitos extraídos de fungos marinhos possuem atividade antioxidante, antimicrobiana, antitumoral e citotóxica⁷³.

Após a descoberta da penicilina, em 1945, Giuseppe Brotzu, começou a investigar amostras de água do mar em busca de novos antibióticos, isolando a cefalosporina C a partir do fungo *Cephalosporium acremonium* (atualmente conhecido como *Acremonium chrysogenum*). Apesar da descoberta, os actinomicetos tornaram-se o foco principal do trabalho. O interesse em fungos resurgiu quando a ciclosporina A foi isolada a partir de *Tolypocladium inflatum* em 1976 e foi aprovada para uso clínico como um imunossupressor em 1983. Embora a cefalosporina C foi isolada a partir de um fungo só na década de 90, houve crescimento significativo nos estudos destes microrganismos como produtores de metabólitos secundários⁷².

Wijesekara e colaboradores (2013)⁷³ isolaram um composto chamado *physcion* derivado do fungo marinho *Microsporium* sp. o qual demonstrou apresentar potencial atividade anticâncer. Neste estudo, *physcion* exerceu atividade inibidora contra a proliferação de células *HeLa* de carcinoma cervical humano, induzindo a morte celular por mecanismos de apoptose. Os resultados apresentados por estes pesquisadores sugerem que *physcion* possui características para desenvolver-se como um agente terapêutico na prevenção do câncer cervical.

Microalgas marinhas

As cianobactérias são um grupo diversificado de

bactérias Gram-negativas capazes de realizar fotossíntese e que podem estar presente em uma ampla variedade de ecossistemas. Também conhecidas como algas azuis-verde, as cianobactérias produzem uma variedade de compostos secundários com bioatividade contra vertebrados, invertebrados, plantas, microalgas, fungos e bactérias⁷⁴.

Habilidades desenvolvidas pelas cianobactérias como, a forma de sobrevivência em condições adversas, a formação de esporos resistentes e sobrevivência em condições de altas concentrações de radiação ultravioleta por meio da produção de pigmentos de absorção de UV, fizeram deste grupo uma das formas de vida mais bem sucedidas na Terra. Em adição a esses fatores, outro recurso tem ajudado as cianobactérias a sobreviverem em ecossistemas de recifes tropicais ricos em predadores: a síntese de produtos naturais biologicamente ativos. Como resultado deste processo, as cianobactérias marinhas tropicais, em particular as formas filamentosas, tais como *Lyngbya* sp. ou *Symploca* sp., têm se tornado fontes interessantes de novos produtos naturais com potencial terapêutico e biotecnológico⁷⁵. Esses compostos apresentam importantes propriedades biológicas com atividade antitumoral, anti-inflamatória e antibiótica⁷⁶.

Vários compostos marinhos produzidos pelas cianobactérias agem por interação com alvos moleculares importantes envolvidos na atividade anticâncer promovendo a morte controlada das células tumorais⁷⁷. Alguns destes compostos estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4. Compostos antitumorais derivados de microalgas marinhas.

COMPOSTO	FONTE	REFERÊNCIA
Curacina A	<i>Lyngbya majuscula</i>	Gerwick et al. (1994) ⁷⁸
Dolastatina 10	<i>Symploca</i> sp.	Luesch et al. (2001) ⁷⁹
Dolastatina 15	<i>Lyngbya</i> sp.	Singh et al. (2011) ⁷⁶
Criptoficina-1	<i>Nostoc</i> sp.	Singh et al. (2011) ⁷⁶

4. CONCLUSÕES

A prospecção biotecnológica de novos compostos com atividade antitumoral a partir de microrganismos, sobretudo aqueles oriundos da interação de fungos e bactérias com plantas, bem como aqueles provenientes de ambientes oceânicos, abrirá uma nova abordagem na produção farmacêutica. Essa nova perspectiva de Inovação Tecnológica, tem importância em função da grande variabilidade inter e intraespecífica da microbiota dos ambientes naturais. Além disso, a facilidade de manejo, manutenção, obtenção por processos fermentativos e purificação dessas novidades moleculares reforçam a área da biotecnologia microbiana nestas primeiras décadas do século 21.

REFERÊNCIAS

- [1] Junqueira [1] Cox B, Sneyd MJ. A regional non-melanoma skin cancer (NMSC) collection as part of the National Cancer Registry. *N Z Med J* 2011; 124(1346):101-2.
- [2] Belizário JE. O próximo desafio: reverter o câncer. *Ciência Hoje* 2002; 3(184):51-2.
- [3] Bernardi A, Silva MCJ, Lenz G. Abordagem molecular no desenvolvimento de fármacos antitumorais. *Infarma* 2003; 15:9-10.
- [4] World Health Organization. Prevalence data of cancer worldwide. [acesso 23 out. 2013] Disponível em: <http://www.who.int/features/factfiles/cancer/en/index.html>
- [5] Brasil. Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer. [online]. Rio de Janeiro, Brasil: Incidência de Câncer no Brasil; 2012. [acesso em 20 out. 2013]. Disponível em <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/index.asp?ID=2>.
- [6] Almeida VL, Leitão A, Reina LCB, Montanari CA, Donnici CL. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Quim Nova* 2005; 28(1):118-29.
- [7] Johnston PG, Spence RAJ. *Oncologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.
- [8] Costa-Lotufo LV, Montenegro RC, Alves APNN, Madeira SVF, Pessoa C, Moraes MEA, et al. Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. *Rev Virtual Quim* 2010; 2(1):47-58.
- [9] Machado FL da S, Kaiser CR, Costa SS, Gestinari LM, Soares AR. Atividade biológica de metabólitos secundários de algas marinhas do gênero *Laurencia*. *Rev Bras Farmacogn* 2010; 20(3):441-52.
- [10] Conti R, Guimarães DO, Pupo MT. Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbiotes como fontes de produtos naturais bioativos. *Cienc Cult* 2012; 64(3):43-7.
- [11] Souza AQL, Souza ADL, Astolfi S, Belém MLP, Sarquis MIM, Pereira JO. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (audl) rich e *Strychnos cogens benth*. *Acta Amazônica* 2004; 34(2):185-95.
- [12] Menezes CBA, Silva BP, Sousa IMO, Ruiz ALTG, Spindola HM, Cabral E, et al. *In vitro* and *in vivo* antitumor activity of crude extracts obtained from Brazilian *Chromobacterium sp* isolates. *Braz J Med Biol Res* 2013; 46(1):65-70.
- [13] Donadio S, Monciardini P, Alduina R, Mazza P, Chiocchini C, Cavaletti L, et al. Microbial technologies for the discovery of novel bioactive metabolites. *J Biotechnol* 2002; 99(3):187-98.
- [14] Stone JK, Bacon CW, White JF. An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: Bacon CW, White JF (Eds) *Microbial endophytes*. Marcel Dekker Inc., New York; 2000.
- [15] Gamboa MA, Bayman P. Communities of endophytic fungi in leaves of a tropical timber tree (*Guarea guidonia: Meliaceae*). *Biotropica* 2001; 33(2):352-60.
- [16] Gunatilaka AAL. Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *J Nat Prod* 2006; 69(3):509-26.
- [17] Cao SX, You JL, Zhou SN. Endophytic fungi from *Musa acuminata* leaves and roots in South China. *World J Microbiol Biotechnol* 2002; 18(2):169-71.
- [18] Strobel GA; Daisy B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003; 67(4):491-502.
- [19] Guo B, Wang Y, Sun X, Tang K. Bioactive Natural Products from Endophytes: A Review. *Appl Biochem Microbiol* 2008; 44(2):136-42.
- [20] Strobel G, Daisy B, Castillo U, Harper J. Natural Products from Endophytic Microorganisms. *J Nat Prod* 2004; 67(2):257-68.
- [21] Adebayo EA, Oloke JK, A-Oyandele AA, Adegunlola CO. Phytochemical, antioxidant and antimicrobial assay of mushroom metabolite from *Pleurotus pulmonarius* – LAU 09 (JF736658). *J Microbiol Biotechnol Res* 2012; 2(2):366-74.
- [22] Garcia A, Rhoden SA, Bernardi-Wenzel, J, Orlandelli RC, Azevedo JL, Pamphile JA. Antimicrobial Activity of Crude Extracts of Endophytic Fungi Isolated from Medicinal Plant *Sapindus saponaria* L. *J Appl Pharm Sci* 2012; 2(10):35-40.
- [23] Orlandelli RC, Alberto RN, Azevedo JL, Pamphile JA. *In vitro* Antibacterial Activity of Crude Extracts Produced by Endophytic Fungi Isolated from *Piper hispidum* Sw. *J Appl Pharm Sci* 2012; 2(10):137-41.
- [24] Rhoden SA, Garcia A, Bongiorno VA, Azevedo JL, Pamphile JA. Antimicrobial Activity of Crude Extracts of Endophytic Fungi Isolated from Medicinal Plant *Trichilia elegans* A. Juss. *J Appl Pharm Sci* 2012; 2(8):57-9.
- [25] Specian V, Sarragiotto MH, Pamphile JA, Clemente E. Chemical characterization of bioactive compounds from the endophytic fungus *Diaporthe helianthi* isolated from *Luehea divaricata*. *Braz J Microbiol* 2012; 43(3):1174-82 .
- [26] Flores AC, Pamphile JA, Serragiotto MH, Clemente E. Production of 3-nitropropionic acid by endophytic fungus *Phomopsis longicolla* isolated from *Trichilia elegans* A. JUSS ssp. *elegans* and evaluation of biological activity. *World J Microbiol Biotechnol*, 2013; 29(5):923-32.
- [27] Bononi VLR, Grandi RAP. (Org.). *Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos – noções Básicas de Taxonomia e Aplicações Biotecnológicas*. São Paulo: Inst. de Botânica, SP; 1999.
- [28] Hawksworth DL. Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. *Stud Mycol* 2004; 50:9-18.
- [29] Mueller GM, Bills GF, Foster MS. Biodiversity of Fungi – Inventory and monitoring methods. In: Stone JK, Polishook JD, White JFJ. *Endophytic Fungi*. Elsevier Academic Press; 2004.
- [30] Suryanarayanan TS, Kumaresan V, Hohnson JA. Foliar fungal endophytes from two species of the *Mangrove rhizophora*. *Can J Microbiol* 1998; 44(10):1003-6.
- [31] Ferrara MA. Fungos Endofíticos. Potencial para a Produção de Substâncias Bioativas. *Revista Fitos* 2006; 2(1):73-9.
- [32] Vieira MLA. Bioprospecção da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos associados a *Solanum cernuum vell.* (*Solanaceae*). [Dissertação] Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais; 2008.
- [33] Bérdy J. Bioactive microbial metabolites. *J Antibio* 2005; 58(1):1-26.
- [34] Schulz B, Boyle C. The endophytic continuum. *Mycol Res* 2005; 109(6):661-86.
- [35] Jalgaonwala RB, Mohite BV, Mahajan RTJ. A review: Natural products from plant associated endophytic fungi. *J Microbiol Biotechnol Res* 2011; 1(2):21-32.
- [36] Aly AH, Debbad A, Proksch P. Fungal endophytes:

unique plant inhabitants with great promises. *Appl Microbiol Biotechnol* 2011; 90(6):1829-45

[37] Strobel GA, Daisy B, Castillo U. The biological promise of microbial endophytes and natural products. *Plant Pathol J* 2005; 4(2):161-76.

[38] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science* 1993; 260(5105):214-16.

[39] Teiten MH, Mack F, Debbab A, Aly AH, Dicato M, Proksch P, et al. Anticancer effect of Altersolanol A, a metabolite produced by the endophytic fungus *Stemphylium globuliferum*, mediated by its pro-apoptotic and anti-invasive potential via the inhibition of NF- κ B activity. *Bioorg Med Chem* 2013; 21(13):3850-8.

[40] Puri SC, Nazir A, Chawla R, Arora R, Riyaz-Ul-Hasan S, Amna T, et al. The endophytic fungus *Trametes hirsute* as a novel alternative source of Podophyllotoxin and related aryl tetralin lignans. *J Biotechnol* 2006; 122(4):494-510.

[41] Yang X, Zhang L, Guo B, Guo S. Preliminary study of Vincristine-producing endophytic fungus isolated from leaves of *Catharanthus roseus*. *Zhong Cao Yao* 2004; 35(1):79-81.

[42] Blunt JW, Copp BR, Hu WP, Munro MH, Northcote PT, Prinsep MR. Marine natural products. *Nat Prod Rep* 2008; 25(1):35-94.

[43] McInroy JA, Kloepper JW. Population dynamics of endophytic bacteria in field-grown sweet corn and cotton. *Can J Microbiol* 1995; 41(10):895-901.

[44] Zinniel DK, Lambrecht P, Harris NB, Feng Z, Kuczmariski D, Higley P, et al. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68(5):2198-2208.

[45] Azevedo JL, Maccheroni WJr, Pereira JO, Araújo WL. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electron J Biotechnol* 2000; 3(1):1-4.

[46] Lodewyck C, Vangronsveld J, Porteous F, Moore ERB, Taghavi S, Mezgeay M, et al. Endophytic bacteria and their potential application. *Crit Rev Plant Sci*, 2002; 21(6):583-606.

[47] Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF, Kloepper JW. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can J Microbiol* 1997; 43(10):895-914.

[48] Vendan RT, Yu YJ, Lee SH, Rhee YH. Diversity of endophytic bacteria in ginseng and their potential for plant growth promotion. *J Microbiol* 2010; 48(5):559-65.

[49] Bascom-Slack C.A, Ma C, Moore E, Babbs B, Fenn K, Greene JS, et al. Multiple novel biologically active endophytic actinomycetes isolated from upper Amazonian rainforests. *Microb Ecol* 2009; 58(2):374-83.

[50] Cao LX, Qiu ZQ, You JL, Tan HM, Zhou S. Isolation and characterization of endophytic streptomycete antagonists of *Fusarium* wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. *FEMS Microbiol Lett* 2005; 247(2):147-52.

[51] Igarashi Y, Iida T, Yoshida R, Furumai T. Pteridic acids A and B, novel plant growth promoters with auxin-like activity from *Streptomyces hygrosopicus* TP-A0451. *J Antibiot* 2002; 55(8):764-7.

[52] Hasegawa S, Meguro A, Shimizu M, Nishimura T, Kunoh H. Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants. *Actinomycetologica* 2006; 20(2):72-81.

[53] Velazquez E, Rojas M, Lorite MJ, Rivas R, Zurdo-Pineiro JL, Heydrich M, et al. Genetic diversity of endophytic bacteria which could be found in the apoplastic sap of medullary paren-

chym of the stem of healthy sugarcane plants. *J Basic Microbiol* 2008; 48(2):118-24.

[54] Zhao GZ, Li J, Qin S, Huang HY, Zhu WY, Xu LH, et al. *Streptomyces artemisiae* sp. nov., a novel actinomycete isolated from surface-sterilized *Artemisia annua* L. tissue. *Int J Syst Evol Microbiol* 2010; 60(1):27-32.

[55] Janso JE, Carter GT. Biosynthetic potential of phylogenetically unique endophytic actinomycetes from tropical plants. *Appl Environ Microbiol* 2010; 76(13):4377-86.

[56] Lu CH, Shen YM. A novel Ansamycin, Naphthomycin K from *Streptomyces* sp. *J Antibiot* 2007; 60(10):649-53.

[57] Kim N, Shin JC, Kim W, Hwang BY, Kim BS, Hong YS, et al. Cytotoxic 6-alkylsalicylic acids from the endophytic *Streptomyces laceyi*. *J Antibiot* 2006; 59(12):797-800.

[58] Igarashi Y, Trujillo ME, Martínez-Molina E, Miyanaga S, Obata T, Sakurai H, et al. Antitumor anthraquinones from an endophytic actinomycete *Micromonospora lupini* sp. nov. *Bioorg Med Chem Lett* 2007; 17(13):3702-5.

[59] Chen YT, Yuan Q, Shan LT, Lin MA, Cheng DQ, Li CY. Antitumor activity of bacterial exopolysaccharides from the endophyte *Bacillus amyloliquefaciens* sp. isolated from *Ophiopogon japonicus*. *Oncol Lett*. 2013; 5(6):1787-92.

[60] Fenical W. Chemical Studies of Marine Bacteria: Developing a New Resource. *Chem Rev* 1993; 93(5):1673-83.

[61] Felicio R de, Oliveira ALL de, Debonsi HM. Bioprospecção a partir dos oceanos: conectando a descoberta de novos fármacos aos produtos naturais marinhos. *Cienc Cult* 2012; 64(3):39-42.

[62] Davidson BS. New dimensions in natural products research: cultured marine microorganisms. *Curr Opin Biotechnol* 1995; 6:284-91.

[63] Kelecom A. Secondary metabolites from marine microorganisms. *An Acad Bras Cienc* 2002; 74(1):151-70.

[64] Nett M, Ikeda H, Moore BS. Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the actinomycetes. *Nat Prod Rep* 2009; 26(11):1362-84.

[65] Kong DX, Jiang YY, Zhang HY. Marine natural products as sources of novel scaffolds: achievement and concern. *Drug Discov Today* 2010; 15(21-22):884-6.

[66] Soria-Mercado IE, Prieto-Davo A, Jensen PR, Fenical W. Antibiotic terpenoid chloro-dihydroquinones from a new marine actinomycete. *J Nat Prod* 2005; 68(6):904-10.

[67] Mincer T J, Jensen PR, Kauffman CA, Fenical W. Widespread and Persistent Populations of a Major New Marine Actinomycete Taxon in Ocean Sediments. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68(10):5005-11.

[68] Bhatnagar I, Kim S-K. Immense Essence of Excellence: Marine Microbial Bioactive Compounds. *Mar Drugs* 2010; 8(10):2673-2701.

[69] Jensen PR, Williams PG, OH DC, Zeigler L, Fenical W. Species-specific secondary metabolite production in marine actinomycetes of the genus *Salinispora*. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73:1146-52.

[70] Abdelmohsen UR, Szesny M, Othman EM, Schirmeister T, Grond S, Stopper H, et al. Antioxidant and Anti-Protease Activities of Diazepinomicin from the Sponge-Associated *Micromonospora* Strain RV115. *Mar Drugs* 2012; 10(10):2208-21.

[71] Kwon HC, Kauffman CA, Jensen PR, Fenical W. Marinomycins A-D, antitumor-antibiotics of a new structure class from a marine actinomycete of the recently discovered genus "*Marinispora*". *J Am Chem Soc* 2006; 128(5):1622-32.

- [72] Bugni TS, Ireland CM. Marine-derived fungi: a chemically and biologically diverse group of microorganisms. *Nat Prod Rep* 2004; 21(1):143-63.
- [73] Wijesekara I, Zhang C, Van TQ, Vo TS, Li YX, Kim SK. Physcion from marine-derived fungus *Microsporium* sp. induces apoptosis in human cervical carcinoma *HeLa* cells. *Microbiol Res* 2013.
- [74] Lopes VR, Fernández N, Martins RF, Vasconcelos V. Primary Screening of the Bioactivity of Brackishwater Cyanobacteria: Toxicity of Crude Extracts to *Artemia salina* Larvae and *Paracentrotus lividus* Embryos. *Mar Drugs* 2010; 8(3):471-82.
- [75] Ramaswamy AV, Flatt PM, Edwards DJ, Simmons TL, Han B, Gerwick WH. The secondary metabolites and biosynthetic gene clusters of marine cyanobacteria. Applications in biotechnology. In: Proksch P, Muller WEG. (Eds.) *Frontiers in Marine Biotechnology*. Horizon Bioscience 2006; 175-224.
- [76] Singh RK, Tiwari SP, Rai AK, Mohapatra TM. Cyanobacteria: an emerging source for drug discovery. *J Antibiot (Tokyo)* 2011; 64(6):401-12.
- [77] Costa M, Costa-Rodrigues J, Fernandes MH, Barros P, Vasconcelos V, Martins R. Marine Cyanobacteria Compounds with Anticancer Properties: A Review on the Implication of Apoptosis. *Mar Drugs* 2012; 10(10): 2181-2207.
- [78] Gerwick WH, Proteau PJ, Nagle DG, Hamel E, Blokhin A, Slate DL. Structure of Curacin A, a Novel Antimitotic, Antiproliferative and Brine Shrimp Toxic Natural Product from the Marine Cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. *J Org Chem* 1994; 59:1243-5.
- [79] Luesch H, Moore RE, Paul VJ, Mooberry SL, Corbett TH. Isolation of Dolastatin 10 from the Marine Cyanobacterium *Symploca* Species VP642 and Total Stereochemistry and Biological Evaluation of Its Analogue Symplostatin 1. *J Nat Prod* 2001; 64(7):907-10.

