



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



AMANDA MARIA DA SILVA

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
BIOTECNOLÓGICO DO PIGMENTO NATURAL OBTIDO DE *Streptomyces*
hiroshimensis UFPEDA 3134**

Recife

2025

AMANDA MARIA DA SILVA

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
BIOTECNOLÓGICO DO PIGMENTO NATURAL OBTIDO DE *Streptomyces*
hiroshimensis UFPEDA 3134**

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Biológicas da Universidade Federal
de Pernambuco, como requisito para
obtenção do título de Doutora em
Ciências Biológicas. Área de
concentração: Sistemas biológicos

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Gláucia Manoella de Souza Lima
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Jaciana dos Santos Aguiar

Recife
2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Silva, Amanda Maria da.

Produção, caracterização e avaliação do potencial biotecnológico do pigmento natural obtido de *Streptomyces hiroshimensis* UFPEDA 3134 / Amanda Maria da Silva. - Recife, 2025.

162f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2025.

Orientação: Gláucia Manoella de Souza Lima.

Coorientação: Jaciana dos Santos Aguiar.

Inclui referências e anexos.

1. Biopigmentos; 2. Actinobactérias; 3. Bioatividades; 4. Estabilidade. I. Lima, Gláucia Manoella de Souza. II. Aguiar, Jaciana dos Santos. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

AMANDA MARIA DA SILVA

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
BIOTECNOLÓGICO DO PIGMENTO NATURAL OBTIDO DE *Streptomyces*
hiroshimensis UFPEDA 3134**

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Biológicas da Universidade Federal
de Pernambuco, como requisito para
obtenção do título de Doutora em
Ciências Biológicas. Área de
concentração: Sistemas biológicos

Aprovada em: 11/03/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Gláucia Manoella de Souza Lima Gomes (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^a. Dr^a. Maria Betânia Melo de Oliveira (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof^a. Dr^a. Norma Buarque de Gusmão (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof^a. Dr^a. Kêsia Xisto da Fônsaca Ribeiro de Sena (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof^a. Dr^a. Mariza Severina de Lima Silva (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Ao meu pai, Lenilton Damião (*in memoriam*), minha mãe Eliete Maria e minha avó Cecília (*in memoriam*) que sonharam junto comigo e me incentivaram a acreditar na educação, dedico!

Agradecimentos

Agradeço infinitamente a Deus por sua bondade e por ter me sustentado até aqui, sendo meu alicerce e minha força durante toda a caminhada, me ajudando a concluir mais esta etapa.

Aos meus pais, Lenilton Damião e Eliete Maria, que sempre fizeram de tudo para que eu tivesse a oportunidade da educação. Obrigada pelo apoio, pelo incentivo, pela acreditação e pelas orações.

Aos meus irmãos, Lenilton Júnior e Juniely Maria, pelo incentivo, apoio, escuta e companheirismo. Obrigada pelos abraços e sorrisos que me ajudaram a trilhar esta jornada.

Agradeço a minha avó, por ter acreditado tanto em mim e por ter sido meu anjinho, intercedendo por mim quando eu não tinha mais forças.

A minha família por todo apoio e compreensão das minhas ausências.

Ao meu Noivo, Arthur Travassos, por todo companheirismo, paciência, escuta, incentivo e suporte. Por ser presente e me ajudar a atravessar tudo isso, acreditando em mim e me impulsionando quando eu já duvidava.

Aos meus sobrinhos, Sara e Emanuel, por me arrancarem sorrisos, abraços e por todo carinho que tornaram os dias mais leves.

A minha orientadora, Glaucia Manoella, por toda confiança, generosidade, partilha, paciência, incentivo e disponibilidade, muito obrigada!

A minha co-orientadora Jaciana Aguiar, por ter me acolhido como sua aluna e me ajudado a ingressar nesta etapa tão importante da minha vida, muito obrigada!

Ao professor Edson dos Anjos e toda sua equipe, por toda contribuição, paciência e disponibilidade em aceitar participar da complexa tarefa de elucidação da molécula e pelo compartilhamento de tantos conhecimentos. Obrigada pela confiança e colaboração!

Aos amigos e técnicos da coleção de Micro-organismos UFPEDA, Marcela Sobral (Marcelita), Fátima Regina (Fafá), Luís Carlos, e Allana Gouveia por todo companheirismo, amizade, colaboração e escuta. Vocês foram essenciais para a conclusão dessa trajetória.

A minha companheira de experimentos Estefany Kesia, muito obrigada por toda colaboração, disponibilidade, companheirismo e dedicação, você foi peça importante na realização deste trabalho. Aos alunos de Iniciação e companheiros de laboratório

José Henrique, Helena Clemente e Antônio Oliveira, por todo companheirismo, colaboração e disponibilidade, vocês alegraram meus dias.

Aos companheiros de laboratório, Ana Cláudia Lemos, Rabersh Sales, Gabriel Santos, Nathaly Gregório, Lícia Lanusa, Julia Santos, Karen Kathilyn, Paulo Henrique, por toda companhia, risadas, colaborações e conversas que tornavam o dia mais leve. Gratidão!

Aos meus amigos do departamento de antibióticos, por toda colaboração e apoio.

Aos professores e colaboradores Alexandre Goes, Mariza Lima, Ana Maria Mendonça, Máira de Vasconcelos, Dewson Rocha, Rafael Ximenes, Henrique Costa, Raudiney Mendes, Marcos Barbosa, José Geraldo e Denisson Libório, pela colaboração e disponibilidade na realização deste trabalho.

Agradeço ainda a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento desta pesquisa.

Aos coordenadores da Pós-graduação pela escuta, incentivo e disponibilidade.

Aos amigos que me acompanharam e me fortaleceram durante a caminhada, Michel Ferreira, Sueden Oliveira, Isabela Ribeiro, Anita Bezerra, João Pedro, Cássio Salgado, Linaldo Francisco, Letícia.

A todos os meus amigos de perto ou de longe que me auxiliaram durante todo esse processo, eu sou extremamente grata a Deus pela vida de cada um de vocês. Vocês são muito importantes para mim.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste sonho. Muito Obrigada!

RESUMO

Pigmentos naturais produzidos por micro-organismos apresentam vantagens que os tornam importantes substitutos aos pigmentos sintéticos, os quais são relacionados a malefícios à saúde. Actinobactérias compõem um grupo de micro-organismos reconhecido pela produção de metabólitos secundários de interesse, e pela diversidade de suas colônias. Neste estudo, foi realizada a identificação do micro-organismo *Streptomyces* sp. UFPEDA 3134, seguido da investigação da produção de pigmentos, caracterização química deste e avaliação do seu potencial biotecnológico. O micro-organismo foi identificado por técnicas bioquímicas, fisiológicas e genéticas, e a produção de pigmentos realizada em ensaios fermentativos utilizando caldo ISP-2. O pigmento produzido foi caracterizado quimicamente e avaliado quanto a estabilidade térmica e ao pH, atividade antimicrobiana, toxicidade aguda, citotoxicidade e genotoxicidade. A actinobactéria foi identificada como *Streptomyces hiroshimensis* UFPEDA 3134, produtora do pigmento vermelho caracterizado como estreptorrubina B em cultivo submerso sob agitação (150 rpm) e estático. O pigmento apresenta pico de absorção máxima em ~530 nm, estabilidade térmica (50°C - 98°C) e sensibilidade a variações de pH (2 a 11) com eventos de degradação térmica à 119,5°C e 276°C nas Análises Termogravimétricas (TGA). Foi verificada atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* MRSA em 125 µg/mL e 250 µg/mL e baixa de toxicidade nos modelos *Caenorhabditis elegans*, *Galleria mellonella* (5 mg/mL e 2 mg/mL) e *Biomphalaria glabrata*. No ensaio de genotoxicidade não foram verificados danos ao DNA em concentrações ≤ 0,1 mg/mL, contudo, alterações genéticas em concentrações superiores sugerem seu efeito dose dependente. Dessa forma, estreptorrubina B produzida por *S. hiroshimensis* UFPEDA 3134 apresenta potencial para utilização biotecnológica em diversos setores e aplicações, incluindo indústrias têxteis, alimentícias, farmacêuticas e de cosméticos. Podendo ainda, ter suas propriedades exploradas para a incorporação em materiais bioativos, como por exemplo, hidrogéis, filmes inteligentes e bionanocompositos.

Palavras-chave: Biopigmentos. Actinobactéria. Estabilidade. Bioatividade.

ABSTRACT

Natural pigments produced by microorganisms have advantages that make them important substitutes for synthetic pigments, which have been linked to health problems. Actinobacteria are a group of microorganisms recognized for the production of secondary metabolites of interest and for the diversity of their colonies. In this study, the microorganism *Streptomyces sp.* UFPEDA 3134 was identified, followed by an investigation into pigment production, chemical characterization and an assessment of biotechnological potential. The microorganism was identified using biochemical, physiological and genetic techniques, and pigment production was carried out in fermentation trials using ISP-2 broth. The pigment produced was chemically characterized and evaluated for thermal and pH stability, antimicrobial activity, acute toxicity, cytotoxicity and genotoxicity. The actinobacterium was identified as *Streptomyces hiroshimensis* UFPEDA 3134, producer of the red pigment characterized as streptorubin B in submerged culture under agitation (150 rpm) and static culture. The pigment has a maximum absorption peak at ~530 nm, thermal stability (50°C - 98°C) and sensitivity to pH variations (2 to 11) with thermal degradation events at 119.5°C and 276°C in Thermogravimetric Analyses (TGA). Antimicrobial activity was verified against *Staphylococcus aureus* MRSA at 125 µg/mL and 250 µg/mL and low toxicity in *Caenorhabditis elegans*, *Galleria mellonella* (5 mg/mL and 2 mg/mL) and *Biomphalaria glabrata* models. In genotoxicity test, no DNA damage was found at concentrations ≤ 0.1 mg/mL, however, genetic alterations at higher concentrations suggest dose-dependent effect. Thus, streptorubin B produced by *S. hiroshimensis* UFPEDA 3134 has potential for biotechnological use in various sectors and applications, including textile, food, pharmaceutical and cosmetics industries. Its properties could also be explored for incorporation into bioactive materials, such as hydrogels, smart films and bionanocomposites.

Keywords: Biopigments. Actinobacteria. Stability. Biological activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema de desenvolvimento de actinobactérias	29
Figura 2.	(A) tipos de arranjos de cadeias de esporos simples: (1a) Cadeia reta; (1b) cadeia flexível; (1c) cadeia “Retinaculum-apertum”; (1d) Cadeia em espiral; (B) Tipos de arranjos de cadeias Verticiladas: (2a) Monoverticilo; (2b) Monoverticilo em espiral; (2c) Biverticilo; (2d) Biverticilo espiral.	32
Figura 3.	Estrutura tripirrólica característica das prodigininas	35
Figura 4.	Estrutura química de algumas das prodigininas cíclicas (estreptorrubina B) e acíclicas (prodigiosina e undecilprodigiosina).	36
Figura 5.	Biossíntese metabólica da estreptorrubina B a partir das moléculas de 2-undecilpirool e MBC	41
Figura 6.	Diferentes estágios de desenvolvimento de <i>Galleria mellonella</i> . Ovos (1), larva com 10 dias (2), larva com 20 dias (3), larva entre 25-35 dias (4 e 5), larva com aproximadamente 40 dias (último estágio larval) (6), pré-pupas e pupas (7 e 8) e inseto adulto (9).	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Espécies de Actinobactérias produtoras de compostos bioativos.	30
Tabela 2.	Atividades biológicas e fontes de extração de algumas prodigininas	37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 GERAL	13
2.2 ESPECÍFICOS.....	13
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
3.1 PIGMENTOS	14
3.1.1 Pigmentos na indústria alimentícia	16
3.1.2 Pigmentos na indústria de cosméticos.....	18
3.1.3 Pigmentos na indústria farmacêutica	21
3.2 FATORES QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO DE PIGMENTOS	23
3.2.1 Utilização de resíduos como fontes alternativas para produção de pigmentos	25
3.3 ACTINOBACTÉRIAS.....	28
3.3.1 Características gerais.....	28
3.3.2 Gênero <i>Streptomyces</i>.....	32
3.4 PRINCIPAIS PIGMENTOS PRODUZIDOS POR ACTINOBACTÉRIAS.....	33
3.4.1 Prodigininas	35
3.4.1.1 Estreptorrubina B: Características gerais	40
3.5 MODELOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS MAMÍFEROS	42
3.5.1 Modelo de <i>Galleria mellonella</i>	43
3.5.2 Modelo <i>Caenorhabditis elegans</i>	44
3.5.3 Modelo <i>Biomphalaria glabrata</i>	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1 artigo 1	47
4.2 artigo 2	80
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	141
6. SÚMULA CURRICULAR.....	142
REFERÊNCIAS	144
ANEXO A – Comprovante de submissão do artigo 1	160

1. INTRODUÇÃO

Pigmentos são moléculas amplamente utilizadas para conferir cor a materiais nos mais diversos setores das indústrias têxteis, alimentícia e de cosméticos (Rana et al., 2021; Kramar & Kostic, 2022; Agarwal et al., 2023). Estas biomoléculas integram e fascinam o cotidiano humano há milhares de anos, influenciando diretamente o consumo de produtos e a forma como os seres humanos interagem e interpretam o ambiente em que se inserem (Soliman et al., 2024).

O mercado de corantes e pigmentos movimentava bilhões de dólares todos os anos, apresentando elevada projeção de mercado devido a suas propriedades. De acordo com relatório da Markets e Markets, o mercado de pigmentos naturais deve crescer de US\$ 4,4 bilhões em 2024 para US\$ 6,0 bilhões em 2029, a uma Taxa de Crescimento Anual (CAGR) de 6,5%. (<https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/natural-dyes-market-78173284.html>).

Pigmentos de origem natural vem ganhando cada vez mais adeptos nos últimos anos devido a sua elevada capacidade colorante, diversidade de cores e atividades bioativas associadas. Geralmente não alérgenos, atóxicos, não cancerígenos e biodegradáveis, os pigmentos naturais costumam apresentar potencial antioxidante, antibacteriano, antiviral e anticancerígeno com elevado potencial para o desenvolvimento de produtos de interesse (Maurya et al., 2024). Estes compostos tem despertado o interesse de pesquisadores em todo o mundo e conquistado espaço no mercado consumidor como substitutos aos corantes sintéticos, comumente associados a danos à saúde humana, como alergias e tumores (Ali et al., 2022; Muñoz et al., 2022) e ao meio ambiente, devido à baixa degradação e elevada taxa de acumulação em superfícies, fatores que motivaram a proibição de alguns destes compostos em determinados países (Aman Mohammadi et al., 2021; Afroz Toma et al., 2023).

Os micro-organismos representam a fonte mais vantajosa para obtenção de biopigmentos devido à estabilidade, o não condicionamento a variações sazonais, alto rendimento, custo-benefício e fácil obtenção (Sarmiento-Tovar et al., 2022). Dessa forma muitas bactérias têm sido reportadas na literatura como fontes promissoras para produção de pigmentos, incluindo actinobactérias (Bhakyashree e Kannabiran, 2020).

Actinobactérias são micro-organismos amplamente reconhecidos na literatura por sua eficiência na produção de metabólitos secundários de utilização comercial,

em especial o gênero *Streptomyces*, responsável pela produção de cerca de 80% dos metabólitos microbianos conhecidos, incluindo antibióticos (Bhakyashree & Kannabiran, 2020). A variedade de compostos produzidos por este grupo de micro-organismos, bem como a diversidade de colorações observadas em suas colônias (coloração vermelha, rosa, laranja, marrom e branca, por exemplo) (Goodfellow, 2012) o torna fonte potencial para a obtenção de biopigmentos (Ding et al., 2019; Song et al., 2021).

Dentre as actinobactérias, a espécie *Streptomyces hiroshimensis* é fonte produtora de compostos importantes como pigmentos melanoides, antibióticos e antitumorais, configurando alternativa à obtenção de pigmentos bacterianos com potenciais aplicações de mercado, como as prodigininas.

As prodigininas compõe uma ampla classe de pigmentos vermelhos, os quais tem demonstrado numerosas aplicações devido a sua diversidade estrutural e propriedades como agentes antioxidantes e antimicrobianas, por exemplo, sendo fortes candidatos às indústrias nutracêutica, farmacológica e de corantes alimentares (Qin et al., 2023). Essa classe de pigmentos possui representantes importantes, como a estreptorrubina B, uma prodiginina cíclica considerada promissora para o tratamento de neoplasias e aplicações comerciais (Han et al., 2024; Weber et al., 2023; Sheefaa & Sivaperumal, 2022).

Diante do exposto esta pesquisa tem por objetivo investigar o potencial biotecnológico do pigmento produzido por *Streptomyces* sp. UFPEDA 3134, realizar a caracterização química deste e investigar propriedades a fim de identificar possíveis aplicações biotecnológicas.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Obter, caracterizar quimicamente e avaliar o potencial biotecnológico do pigmento natural produzido por *Streptomyces* sp. UFPEDA 3134.

2.2 ESPECÍFICOS

- Elaborar um artigo de revisão sobre pigmentos microbianos e suas aplicações;
- Realizar a identificação taxonômica do micro-organismo;
- Produzir pigmento natural utilizando *Streptomyces* sp. UFPEDA 3134;
- Caracterizar quimicamente o pigmento produzido pelo micro-organismo;
- Investigar a estabilidade do pigmento a parâmetros físico-químicos;
- Verificar a atividade antimicrobiana do pigmento natural;
- Verificar a toxicidade aguda do pigmento natural *in vivo*;
- Avaliar a citotoxicidade do pigmento;
- Avaliar a genotoxicidade do pigmento;

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 PIGMENTOS

Pigmentos são substâncias que absorvem diferentes comprimentos de ondas, apresentam cores variadas e são utilizados para conferir ou intensificar a cor de materiais, sendo amplamente empregados em diversos setores industriais (Han et al., 2021; Paillière-Jiménez, Stincone & Brandelli, 2020) e relacionados a aceitação de produtos sendo indicadores de qualidade, por exemplo (Agarwal et al., 2023).

A utilização de pigmentos de origem natural vem ganhando cada vez mais adeptos à medida que os danos à saúde humana, como alergias e tumores (Ali et al., 2022; Muñoz et al., 2022), vem sendo associados à utilização dos tradicionais pigmentos sintéticos.

A busca de substâncias colorantes é uma prática frequente e histórica da humanidade. Corantes e pigmentos são utilizados desde o surgimento da civilização humana pelos antigos egípcios, indianos, romenos e gregos (Yadav et al., 2023). Os povos indígenas, por exemplo, utilizam do corante natural urucum para pintar seus corpos em rituais culturais e aristocratas utilizavam legumes e sementes com tonalidades vermelhas para tingir suas roupas (de Oliveira, 2022).

Compostos de estruturas variáveis, os pigmentos podem ser classificados quanto à sua natureza em sintéticos e naturais (biopigmentos). Os pigmentos naturais obtidos a partir de insetos, vegetais e minerais foram as principais fontes de extração de pigmentos desde as primeiras civilizações (Rajendran, Somasundaram & Dufossé, 2023).

Corantes e pigmentos são componentes químicos capazes de conferir cor a materiais e objetos, com base na interação entre a matéria e a substância colorante (Agarwal et al., 2023). Contudo, embora sejam tratados muitas vezes como sinônimos, estes possuem comportamento químico diferente. Os corantes são substâncias solúveis ou que se dissolvem no processo de aplicação e atribuem cor por absorção seletiva da luz, enquanto os pigmentos são partículas sólidas, coloridas ou incolores, orgânicas ou inorgânicas, geralmente insolúveis e que não interagem com o veículo ou o meio em que são incorporadas (Yadav et al., 2023).

Os pigmentos podem ser obtidos de fontes orgânicas (vegetais, fungos, líquens e bactérias) ou inorgânicas (como alguns minerais). Na atualidade, alguns pigmentos orgânicos são produzidos sinteticamente, mas até o século XIX eram obtidos de fontes

naturais. O primeiro pigmento orgânico sintético comercialmente bem-sucedido, a mauveína (derivada da anilina), foi descoberto em 1856 por William Henry Perkin (Holme, 2006). A descoberta e síntese da mauveína iniciou a era dos pigmentos sintéticos e abriu as portas para o desenvolvimento de centenas de corantes e pigmentos, reduzindo drasticamente o uso de compostos naturais (Rather et al., 2023). Com o passar dos anos e o aprimoramento da síntese química, corantes e pigmentos azo ($-N=N-$), disponibilizaram para a indústria um amplo espectro de cores e tonalidades (Rather et al., 2023).

Os pigmentos sintéticos dominaram o mercado mundial por muito tempo, estando presente em alimentos, cosméticos, tecidos e medicamentos, devido ao baixo custo de produção, estabilidade química e maior variedade de tonalidades (Singh et al., 2023; Rather et al., 2023). Contudo estas moléculas têm sido fortemente correlacionadas a efeitos nocivos à saúde, como alergias, tumores, déficit de atenção e hiperatividade e danos ao meio ambiente, como contaminante de efluentes e solos (Ali et al., 2022; Muñoz et al., 2022) sendo considerados compostos não biodegradáveis e não sustentáveis, representando um desafio para o descarte seguro dos produtos oriundos da sua fabricação (Ramesh et al., 2019; Paillière-Jiménez, Stincone & Brandelli, 2020). Esses eventos, bem como a mudança de perfil do mercado consumidor, têm demandado a busca por produtos que empreguem apenas compostos de origem natural, minimizando danos à saúde humana e ao ambiente. Dessa forma observa-se um crescente interesse na busca de fontes alternativas produtoras de pigmentos naturais, a fim de suprir as demandas industriais e ambientais do século.

Plantas e micro-organismos são considerados as principais fontes para obtenção de pigmentos naturais devido à acumulação de altas concentrações de moléculas pigmentadas em suas membranas celulares e grânulos citoplasmáticos que possibilita maior eficácia na extração e purificação para aplicação em processos industriais (Paul et al., 2020). Contudo, a independência da sazonalidade e do clima, bem como a possibilidade de alteração nos parâmetros de crescimento microbiano e composição do meio de cultivo para otimização da produção e possibilidade de elucidação dos mecanismos de biossíntese, tornam os pigmentos bacterianos mais vantajosos frente aos pigmentos vegetais (Paillière-Jiménez, Stincone, & Brandelli, 2020). Além disso, a produção e extração de pigmentos a partir de micro-organismos aparenta ter efeito zero ou insignificante na biodiversidade e no meio-ambiente (Rana

et al., 2021).

Os biopigmentos microbianos apresentam distinções em sua composição química, funcionalidades e ocorrência, pertencendo a diferentes categorias como derivados de flavonoides, carotenoides, pirróis, prodigininas (Rana et al., 2021), antocianinas, melaninas, riboflavina, violaceína, astaxantina e ficocianina (Nawaz et al., 2020; Rana et al., 2021; Kramar & Kostic, 2022; Singh et al., 2023). Vários desses pigmentos são bioativos e podem apresentar propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antifúngicas, antivirais e antitumorais, podendo ser utilizados em medicamentos, cosméticos e alimentos (Rajendran, Somasundaram e Dufossé, 2023; Singh et al., 2023).

Nesse contexto, a obtenção de novas fontes de biopigmentos, especial produzidos por actinobactérias, representa uma alternativa importante ao desenvolvimento de compostos colorantes dotados de atividades bioativas.

3.1.1 Pigmentos na indústria alimentícia

Na indústria alimentícia, a cor desempenha papel importante, estando associada a impressão obtida pelo consumidor a respeito de parâmetros como frescor, sabor, qualidade e valor nutricional (Rana et al., 2021; Singh et al., 2023) influenciando na aceitação dos alimentos (Ghosh et al., 2022). Do mesmo modo, a modificação da cor por processos de decomposição sugere que o alimento está impróprio para o consumo. Substâncias colorantes são utilizadas para restaurar, potencializar ou manter a uniformidade, de produtos industrializados ou naturais (Silva et al., 2022) os quais são geralmente instáveis e sofrem modificações durante o processamento.

Pigmentos e corantes vermelhos, em particular, são os mais utilizados na indústria alimentícia e apresenta a capacidade de potencializar os efeitos positivos na dieta (Fernández-López et al., 2020), sendo associado ao frescor, sabor e qualidade dos alimentos.

No mercado de alimentos, a utilização de pigmentos naturais em substituição aos sintéticos tem ocorrido de forma gradativa, impulsionada pela mudança no padrão de consumo e combinada as vantagens associadas a estas moléculas, como diversidade de cores, propriedades físico-químicas e bioativas, que ampliam as suas possibilidades de aplicação (Paillière-Jiménez, Stincone & Brandelli, 2020). Pigmentos produzidos por fungos, bactérias, actinobactérias e microalgas tem sido considerado

como fontes potenciais para a aplicação alimentar constituindo alvos importantes de pesquisas, objetivando a extração destas moléculas (Ramesh et al., 2019; Rather et al., 2022). Entre os pigmentos naturais extraídos de micro-organismos a riboflavina, betacaroteno, melanina, violaceína e astaxantina constituem algumas das classes que mais se destacam na indústria alimentícia (Sen, Barrow & Deshmuk, 2019; Rana et al., 2021). Devido a intensa propriedade corante, pigmentos como os carotenóides, vermelho-alaranjado são utilizados para atribuir cor a alimentos como doces (bolos e sorvetes), bebidas não alcoólicas, queijos, entre outros (Singh & Sambyal, 2022). O β -caroteno extraído do fungo filamentoso *Blakeslea trispora* foi o primeiro pigmento natural autorizado, em 1995, pela União Europeia a ser utilizado como aditivo alimentar (Papadaki & Mantzouridou, 2021), desde então, vários pigmentos naturais começaram a ser utilizados para esta finalidade como, por exemplo a astaxantina (obtida de *Paracoccus carotinifaciens* e *Xanthophyllomyces dendrorhous*), a riboflavina (extraída do fungo *Ashbya gossypii*), o licopeno, β -caroteno (obtidos de *Blakeslea trispora* e *Dunaliella salina*) ficocianina obtida da micro-alga *Arthrospira platensis* (Mohammadi et al., 2021) pigmentos de *Monascus* sp., e as prodigininas, em especial a prodigiosina, extraída de diferentes micro-organismos em especial de bactérias como *Serratia* sp. e *Streptomyces* sp. (Li et al., 2022). Alguns destes já constituem substituintes aos pigmentos sintéticos que estão disponíveis no mercado, e podem ser empregados como aditivos alimentícios (Chen et al., 2021a; Chen et al., 2022).

O mercado de pigmentos na indústria alimentícia é crescente. Estima-se que o mercado de corantes alimentares naturais, deve atingir US\$ 6,0 bilhões até 2028 com previsão de crescimento anual bruto de 5,4%. (<https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/food-preservatives-market-420.html>). Entretanto, apesar das vantagens oferecidas, o alto custo de produção e baixa estabilidade apresentados pela maioria destes compostos, são alguns obstáculos que ainda limitam seu pleno uso a nível industrial e comercial em determinados setores (Sen, Barrow & Deshmuk, 2019).

A produção de pigmentos por micro-organismos fornece possibilidades de melhoramento à produção, e obtenção destes compostos. Além disso, o investimento em técnicas de aprimoramento da extração, busca de novas fontes microbianas, e de métodos eficientes de produção e baixo custo, como a utilização de materiais alternativos no cultivo, engenharia genética e manipulação gênica de espécies já

conhecidas são ferramentas importantes para a exploração destas biomoléculas (Rather et al., 2023).

Além disso, alguns biopigmentos possuem propriedades nutracêuticas além de sua capacidade colorante, e portanto, podem apresentar benefícios para saúde humana como valor nutricional, propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias e antioxidantes (Nawaz et al., 2020; Mishra et al., 2021), agregando ainda mais valor ao produto, protegendo e aumentando seu tempo de prateleira. Estas propriedades são características desejáveis para contornar processos oxidativos e a proliferação de micro-organismos, que constituem os principais mecanismos de alteração na qualidade dos alimentos, em especial a oxidação lipídica que resulta na formação de aldeídos tóxicos e na diminuição da qualidade nutricional graças à degradação de ácidos graxos poli-insaturados (Jamróz & Kopel, 2020; Choe, 2022). Dessa forma, a adição de substâncias antioxidantes contribui para a conservação e retarda a auto oxidação (Aman Mohammadi et al., 2021), aumentando o tempo de prateleira e retardando a deterioração dos alimentos.

A prodigiosina, pigmento natural vermelho pertencente à família das prodigininas, possui relatos de utilização como conservante alimentar natural, sustentável e seguro substituindo o nitrito de sódio, componente carcinogênico (Choe, 2022). Acrescente-se, ainda, que pigmentos de fontes biológicas ou microbianas possuem estabilidade ao calor e ao pH extremos, além de solubilidade em ampla variedade de solventes, propriedades desejáveis a moléculas a serem aplicadas na indústria alimentar (Paul et al., 2020)

3.1.2 Pigmentos na indústria de cosméticos

Nos cosméticos a variedade de cores é fundamental para atrair a atenção dos consumidores, que têm demandado produtos cujos resultados sejam duradouros, com ingredientes seguros e sustentáveis (Chatragadda & Dufossé, 2021; Kiki, 2023). Nesse contexto, a aplicação dos biopigmentos tem sido exaustivamente investigada, principalmente em produtos para a pele (Aman Mohammadi et al., 2022). O mercado de cosméticos é ascendente. Estima-se que em 2027, o mercado de cosméticos naturais movimente US\$ 54,5 bilhões (Thiyagarasaiyar et al., 2020) e por esse motivo a busca por novos ingredientes com propriedades bioativas é constante.

Produtos cosméticos são normalmente destinados a cuidados com o corpo, em

especial a pele, sendo amplamente utilizados para combater o envelhecimento e melhorar a aparência. Estes produtos costumam apresentar diversos componentes em suas formulações, para conferir cor, textura, entre outros fatores. Estes ingredientes são geralmente atóxicos, e capazes de conferir benefícios como proteção e/ou nutrição, entre outros. A pele é um órgão extremamente importante para os humanos pois funciona como uma barreira de proteção contra o estresse ambiental (substâncias químicas e radiação ultravioleta), que acelera o processo de envelhecimento (Solano, 2020; Kiki, 2023) porém, com o passar do tempo e avanço da idade, se torna menos espessa, perdendo sua elasticidade e capacidade de reter umidade (Resende et al., 2021; Kiki, 2023). E com o envelhecimento celular vêm a perda da atividade antioxidante (Resende et al., 2021). Para diminuir os danos, a pele humana apresenta diversos mecanismos endógenos como o aparato de reparo de DNA e apoptose, enzimas antioxidantes e a presença do pigmento foto protetivo melanina (Solano, 2020).

Nesse contexto, é de interesse das formulações cosméticas a adição de compostos antioxidantes, como os biopigmentos cuja alta atividade antioxidante contra Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), auxilia na manutenção da saúde da pele (Zerres & Stahl, 2020). A utilização dos biopigmentos em formulações cosméticas é cada vez mais frequente. Em 2023 o mercado de pigmentos para produtos cosméticos movimentou US\$ 737,45 milhões com uma projeção de crescimento anual de 7,4% até 2030 (<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/cosmetic-pigments-market-report>). Pigmentos microbianos, como a melanina, carotenoides e prodigininas possuem propriedades antioxidantes elevadas, e por essa razão, tem sido utilizados em formulações de protetores solares. Pigmentos lipossolúveis, como os β -carotenoides, apresentam alta atividade antioxidante, sendo utilizados como ingrediente ativo em cremes para a pele com o objetivo de retardar o envelhecimento (Agarwal et al., 2023). Do mesmo modo, Carotenoides como astaxantina, a cantaxantina, o mixol e a saproxantina, (Agarwal et al., 2023) e prodigininas, como a prodigiosina também têm sido exploradas. Esta última, têm suas propriedades antioxidantes associadas as ligações duplas conjugadas e a estrutura do anel pirrólico (Ibrahim et al., 2023). A melanina, é um dos biopigmentos mais utilizados na indústria de cosméticos e além do seu alto poder antioxidante, também têm sido relacionada a atividade antitumoral e alta resistência a radiação Ultravioleta (UV). Por conta do seu comportamento óptico, a melanina protege as células epidérmicas absorvendo

radiações eletromagnéticas em um amplo espectro: desde radiação UV (comprimento de onda entre 180 e 380nm) até regiões do infravermelho (entre 1 e 3 μm), sendo possível utilizá-la em produtos para proteção UV (Solano, 2020; Pakdel et al., 2022) podendo dispersar mais de 99% da luz UV absorvida configurando um importante produto cosmecêutico.

Além de cremes para proteção solar, estudos apontam a utilização da melanina em outros produtos cosméticos bem como filmes plásticos e vernizes devido a sua elevada capacidade de dispersão da luz UV absorvida (Aman Mohammadi et al., 2022).

Agentes antioxidantes e de proteção contra radiação ultravioleta (UV) são substâncias desejáveis à indústria cosmética, uma vez que estas moléculas são capazes de doar elétrons para estabilizar e neutralizar radicais livres (compostos altamente reativos dotados de um único elétron desemparelhado em sua estrutura molecular) que possuem a capacidade de alterar proteínas, lipídios e DNA, podendo resultar em inúmeras doenças como o câncer (Afra et al., 2017).

O mesmo efeito foto protetivo também pode ser observado nos micro-organismos. Em ambiente natural a produção de melanina ocorre, geralmente, em resposta a estresses ambientais. Dessa forma micro-organismos encontrados em ambientes áridos e semi-áridos que apresenta alta incidência de luz solar como, por exemplo, a caatinga brasileira (Silva et al., 2022), podem ser uma boa fonte de melanina para produtos cosméticos.

Dessa forma, a inclusão de biopigmentos em substituição a componentes sintéticos como metais colorantes de produtos cosméticos não apenas diminui a incidência de danos à saúde, como também agrega valor ao produto com importantes atividades biológicas (Venil, Dufossé & Renuka Devi, 2020; Agarwal et al., 2023; Kiki, 2023). Haja visto que elementos sintéticos adicionados a sombras, blush, delineadores e batons podem causar efeitos colaterais indesejados como dano celular, associados à formação de tumores, danos à reprodução, desregulação endócrina, efeitos mutagênicos e atividade neurotóxica (Ding, Wu & Chen, 2022). podendo se acumular nos tecidos humanos, afetar o metabolismo celular e causar câncer (Huang et al., 2022; Cheng, Pei & Zeng, 2022 Kiki, 2023).

3.1.3 Pigmentos na indústria farmacêutica

As propriedades antioxidantes, antitumorais e antibióticas apresentadas por pigmentos microbianos são características amplamente aproveitadas na indústria farmacêutica (Aman Mohammadi et al., 2022; Agarwal et al., 2023).

Embora existam inúmeros fármacos disponíveis, cujas propriedades farmacêuticas e eficiência terapêutica sejam comprovadas, os antibióticos são substâncias cuja busca é frequente, dada a problemática crescente da resistência antimicrobiana, um dos grandes desafios de saúde pública do século XXI (WHO, 2014).

A resistência antimicrobiana está relacionada, entre outras causas, ao uso generalizado de drogas antibacterianas, que aceleram o processo natural de desenvolvimento da resistência dos micro-organismos por meio da intensificação da pressão seletiva (WHO, 2014). A utilização de antibióticos como agentes clínicos alterou as pré-condições para evolução e transferência dos genes de resistência a antibióticos (GRAs) (Alcock et al., 2020; Larsson & Flach, 2022). Além disso, a poluição do meio ambiente pelos antibióticos e a pressão seletiva artificial promovida pelo uso generalizado acentuam ainda mais a resistência microbiana (Larsson & Flach, 2022).

O gênero *Streptomyces* sp., pertencente ao filo das actinobactérias, constitui o maior produtor de pigmentos antibióticos, seguidos por *Nocardia* sp. e *Micronospora* sp. (Manandhar & Sharma, 2017; Sapkota et al., 2020). Dentre os pigmentos produzidos por actinobactérias que exibem propriedades antimicrobianas, destacam-se a prodigiosina e a violaceína já reportadas como efetivas contra patógenos multirresistentes (Choi et al., 2021), e a actinorhodina, um pigmento azul com alta capacidade bacteriostática e antibiótica além de ser indicativo de pH e participar de reações de oxirredução (Sarmiento-Tovar et al., 2022).

A descoberta de pigmentos microbianos com ação antimicrobiana possibilita a inclusão destas moléculas, isoladas ou conjugadas a fármacos conhecidos ou nanopartículas metálicas, em atividade sinérgica, na busca de obter melhores resultados frente a micro-organismos (Singh et al., 2020). Além disso, novos antibióticos podem ser desenvolvidos a partir da descoberta de novos micro-organismos produtores. Nos últimos 20 anos o número de antibióticos produzidos por gêneros raros cresceu para 25% a 30% do total de antibióticos extraídos de

actinobactérias (Ding et al., 2019).

Devido a crescente resistência bacteriana observada aos antibióticos já conhecidos, é urgente a descoberta de novos compostos antimicrobianos. Apesar do gênero *Streptomyces* sp. já representar uma parcela significativa de produtores de biocompostos naturais, novas espécies estão sendo reportadas ano após ano (Donald et al., 2022).

Além da atividade antimicrobiana, pigmentos bacterianos podem apresentar outras propriedades de interesse na indústria farmacêutica. Muitos têm demonstrado atividade antitumoral. Pigmentos produzidos por espécies do gênero *Streptomyces* tais como *S. gresioaurianticus* produz um pigmento amarelo capaz de induzir a apoptose em células HeLa. Portanto, a citotoxicidade regulada dos pigmentos os torna ideais para a terapia do câncer (Agarwal et al., 2023). As prodigininas também apresentam diversos efeitos anti-tumorais. Considerando o modo de ação, podem atuar de quatro formas principais: diminuindo o pH intracelular, lesando o DNA, modulando as quinases e induzindo a apoptose (Pérez-Tomás & Viñas, 2010). Além desses quatro mecanismos principais, pesquisas recentes demonstram, também, o efeito das prodigininas na modulação da survivina, proteína que interfere no apoptose celular (Branco et al., 2020). As diversas moléculas da família das prodigininas já se mostraram eficazes frente à 60 linhagens de células humanas tumorais, incluindo melanomas, leucemia e câncer de mama (Li et al., 2022).

Alguns pigmentos microbianos também apresentam atividade antiviral, imunossupressora e antiparasitária. A prodigiosina demonstrou atividade frente a células infectadas com *Bombyx mori* nucleopoliédrovírus (BmNVP), bem como frente ao Vírus do Herpes Simplex (HSV) (Suryawanshi et al., 2020). Ehrenkauf e colaboradores (2020) comprovaram a eficácia da prodigiosina contra trofozoítos de *Entamoeba histolytica*. Ademais a terapia fotopigmentar fotodinâmica, ou seja, a ativação de pigmentos fotossensibilizantes por energia luminosa para tratar doenças também é uma das aplicações dos pigmentos microbianos na indústria farmacêutica (Ramesh et al., 2022).

Além disso, estudos sugerem uma estreita relação entre a saúde ocular e o desenvolvimento cognitivo de crianças, jovens e adultos ao acúmulo de luteína (Mitra et al., 2021). O acúmulo de carotenoides, como a luteína, nos primeiros anos de vida em áreas submetidas a grande estresse oxidativo (como os olhos e o cérebro) tem auxiliado no desenvolvimento e maturação desses órgãos de comum origem

embrionária (Gazzolo et al., 2021). Do mesmo modo, a suplementação com luteína na terceira idade pode amenizar os efeitos neurodegenerativos do envelhecimento (Mewborn et al., 2019). Outros benefícios incluem o retardamento das implicações do glaucoma (Loughman et al., 2021) e a diminuição dos efeitos oxidativos de doenças inflamatórias (Ahn & Kim, 2021) como as doenças coronarianas, por exemplo.

3.2 FATORES QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO DE PIGMENTOS

Uma das grandes vantagens dos pigmentos microbianos frente a outras fontes de pigmentos naturais, derivados de plantas e animais, é a possibilidade de aumento da produção por meio de estratégias de crescimento, melhor relação custo-benefício e quase nenhum impacto na biodiversidade ou no meio ambiente (Rana et al., 2021).

Os pigmentos microbianos, basicamente, podem ser encontrados de duas formas distintas: pigmentos solúveis que rapidamente se dispersam no meio de cultura (denominados extracelulares) e os insolúveis e que ficam retidos no interior das células (chamados de intracelulares) (Agarwal et al., 2023). Para cada uma dessas situações, o método de extração e purificação sofre pequenas modificações. A extração dos pigmentos extracelulares ocorre por processamento direto do meio de cultura enquanto para pigmentos intracelulares é preciso que a célula seja rompida para que o pigmento seja liberado (Agarwal et al., 2023).

A produção de pigmentos por micro-organismos independe da sazonalidade e apresenta propriedades desejáveis como fácil cultivo, rápido crescimento, alta produtividade em espaço limitado, possibilidade de crescimento utilizando diversas fontes de nitrogênio e carbono e tolerância a variações em parâmetros físicos (temperatura e luminosidade) e químicos (pH e osmolaridade) utilizados na produção (Ramesh et al., 2019). Contudo, para que se tornem os substitutos majoritários aos componentes sintéticos, os materiais produzidos biologicamente devem oferecer vantagens em sua utilização, no custo de produção e estarem em conformidade com as normas e legislações vigentes.

Diversas estratégias vêm sendo utilizadas para o crescimento e extração de pigmentos microbianos, dentre elas duas metodologias fermentativas se destacam: a Fermentação em Estado Sólido (FES) e a Fermentação em Estado Líquido ou Fermentação Submersa (FS). A fermentação em estado sólido (FES) é caracterizada pelo crescimento do micro-organismo aderido a partículas sólidas, sem a necessidade

de constante agitação (Venil, Dufossé & Renuaka Devi, 2020).

Uma das vantagens da FES é a redução dos custos de produção, uma vez que não há a necessidade da utilização de grandes volumes de meio caldo e equipamentos de agitação (p. ex. mesa agitadora). Além disso, há uma maior eficiência fermentativa, maior concentração e estabilidade do produto, reduzida supressão catabólica, possibilidade de cultivo em substratos insolúveis em água, produção de algumas enzimas e metabólitos diferentes do cultivo submerso e a possibilidade de crescimento de um consórcio de espécies (mais observado em crescimento fúngico) (Chilakamarry et al., 2022). A FES é, ainda, menos sensível à contaminação por micro-organismos exógenos (Karimi et al., 2021).

Por outro lado, na fermentação submersa (FS), a principal vantagem é a possibilidade de controlar com precisão as variáveis de crescimento como aeração (por meio da frequência de rotação), temperatura e pH, além de viabilizar diversas metodologias estatísticas para otimizar a produção (Reihani & Khosravi-Darani, 2019). É uma metodologia versátil e pode ser utilizada com diversos micro-organismos para a extração de diferentes classes de pigmentos. Sendo assim, este método é mais apropriado para a produção industrial em larga escala do que produção em estado sólido.

Adicionalmente, a aeração promovida na fermentação submersa possibilita a absorção do oxigênio por parte do micro-organismo sendo este, em geral, mais requerido em substratos reduzidos que, por conseguinte, pode acarretar maior produção celular (Reihani & Khosravi-Darani, 2019).

Muitos estudos buscam a otimização do processo de produção de pigmentos microbianos por meio de diferentes abordagens. Uma abordagem estatística pode economizar tempo e levar a resultados mais conclusivos, uma vez que permite uma rápida triagem de uma gama de fatores e consegue refletir a função de todos os componentes na produção e extração do pigmento (Bhavikatti et al., 2020; Shet et al., 2022).

A metodologia de superfície de resposta (MSR) é uma das mais utilizadas. Essa ferramenta estatística permite modelar a relação entre as variáveis do processo de crescimento como o pH, concentração de nutrientes, temperatura e rotação da mesa agitadora. Dessa forma é possível ajustar um modelo matemático que otimiza as condições de crescimento, de forma a maximizar o rendimento e minimizar o custo de tempo de produção (Shet et al., 2022). Além disso, essa técnica também pode ser

utilizada para identificação de fatores críticos para o sucesso do processo e possíveis gargalos na produção. Associado a esta, ferramentas de engenharia genética e técnicas de melhoramento do processo de cultivo vêm sendo amplamente utilizadas (Salwan & Sharma, 2020; van Bergeijk et al., 2020; Afroz Toma et al., 2023).

A composição do meio de cultura, em especial as fontes de carbono e nitrogênio, também constitui importante relevância no processo fermentativo e, conseqüentemente, no rendimento da produção. O carbono desempenha papel estrutural importante no crescimento celular, enquanto o nitrogênio além de compor os ácidos nucleicos, auxilia no armazenamento energético formando moléculas de ATP (adenosina trifosfato) e está presente na síntese de proteínas (Tortora, Funke & Case, 2017).

As condições de cultivo, no que se refere aos parâmetros físico-químicos, também afetam o crescimento celular e a produção de pigmentos. Fatores como pH, temperatura, aeração e iluminação, exercem particular importância no estímulo ao micro-organismo na produção do metabólito de interesse (Igreja et al., 2021). Em linhas gerais, a maioria dos micro-organismos produzem pigmentos entre 22 e 28 °C, no pH 5-6 com agitação variando de 100 a 150 rpm (Ramesh et al., 2019; Igreja et al., 2021).

Contudo, embora haja bastante esforço para a otimização dos processos de produção de pigmentos, geralmente, sob condições laboratoriais, a produção de metabólitos secundários, pode não ser representativa, pois demanda elevado gasto energético (Shuikan et al., 2020; Bu et al., 2021). Dessa forma, é preciso criar estratégias para que, no laboratório sob condições controladas, o micro-organismo possa exibir as características fenotípicas e fisiológicas observadas em seu habitat.

3.2.1 Utilização de resíduos como fontes alternativas para produção de pigmentos

O meio de cultura deve conter fontes que permitam o desenvolvimento pleno do micro-organismo incluindo macronutrientes, elementos traços e fatores orgânicos de crescimento (Tortora, Funke & Case, 2017). Carbono e nitrogênio são componentes essenciais ao desenvolvimento microbiano, participando do esqueleto estrutural da matéria viva e da constituição das proteínas, ácidos nucleicos e compostos moleculares (Madigan et al., 2016).

Meios de cultura comerciais são os substratos comumente utilizados para

cultivo e produção de metabólitos por micro-organismos. Contudo, estes possuem custo elevado, o que ainda configura um obstáculo para a utilização de pigmentos naturais (Grewal et al., 2022; Aman Mohammadi et al., 2021). Por outro lado, pigmentos sintéticos podem ser produzidos em larga escala a um custo relativamente baixo, além de exibir grande variedade de cores e tonalidades (Sen, Barrow & Deshmukh, 2019).

Para minimizar os custos de produção de metabólitos por micro-organismos, diversas pesquisas têm reportado a utilização de resíduos agroindustriais como substratos para otimizar e melhorar os processos de obtenção de pigmentos naturais. A utilização destes resíduos para a produção de biomassa microbiana, como substituinte total ou parcial de determinada fonte, configura uma alternativa de baixo custo, e ecologicamente viável para a produção de biomoléculas de interesse industrial (Ramesh et al., 2022). Dessa forma, promove-se a gestão sustentável desses recursos ao mesmo tempo em que são gerados produtos de valor agregado (Grewal et al., 2022).

A utilização desse tipo de material como substrato de crescimento microbiano justifica-se devido a presença de diversos nutrientes como carboidratos, proteínas, fibras, minerais e vitaminas (Lopes & Ligabue-Braun, 2021; Sen, Barrow & Deshmukh, 2019), que podem ser utilizados no meio de cultivo como fontes de carbono, nitrogênio e minerais de forma isolada ou combinada com outros elementos como peptona (ou água peptonada) e extrato de levedura (Grewal et al., 2022; Aman Mohammadi et al., 2022).

Particularmente o uso de substratos de origem natural, como resíduos agroindustriais por exemplo, para o cultivo de micro-organismos também pode contribuir positivamente para aumentar o rendimento da produção de pigmentos, em especial nos casos em que estes resíduos são ricos em fontes de carbono e nitrogênio (Ramesh et al., 2022). A utilização de substratos naturais e adsorventes desempenha importante papel no aumento do volume celular durante o processo fermentativo (Chatragadda & Dufossé, 2021).

Entende-se por resíduos agroindustriais qualquer sobra não aproveitada (lixo) proveniente das indústrias alimentar e agrícola, incluindo diversos materiais vegetais como folhas, cascas, sementes, bagaço, borra de café, grãos utilizados na fabricação de cerveja, subprodutos animais como penas e o soro do leite, bagaço de cana-de-açúcar e mandioca (Lopes & Ligabue-Braun, 2021).

O aumento da atividade agroindustrial, tem como consequência o aumento da geração destes resíduos não aproveitados. Atualmente 2,01 bilhões de toneladas de resíduos são gerados todos os anos e as projeções indicam que esse número deve chegar a 3,4 bilhões de toneladas/ano em 2050 (Grewal et al., 2022; Sodhi et al., 2022). A maioria destes resíduos são descartados de forma inadequada em corpos d'água, favorecendo o surgimento de doenças que, em última consequência, afetam a saúde humana (Sodhi et al., 2022; Tyagi & Kumar, 2021).

Diversas fontes residuais vêm sendo exploradas para a pesquisa de crescimento e produção de pigmentos por micro-organismos incluindo o extrato e isolado de arroz, farelo de soja, cenoura preta, maçã, beterraba vermelha, romã, gergelim, azeite de oliva e amido de milho (Aman Mohammadi et al., 2021; Shetty et al., 2021). Descarte de tomates, soro do leite com água de coco e glicerol são alguns dos resíduos utilizados para produção de pigmentos amarelos e alguns carotenoides por meio da técnica de fermentação submersa (Venil, Devi & Ahmad, 2020). Farelo de trigo, farelo de arroz e pó de casca de laranja foram utilizados no crescimento de *Serratia marcescens* e *S. nematodiphilia* a fim de otimizar a extração de prodigiosina, pigmento vermelho e principal molécula da família das prodigininas, (Maurya et al., 2024).

A depender da natureza do resíduo, este pode ser empregado como fonte de carbono/nitrogênio ou outros componentes. Dados da literatura indicam a possibilidade de utilização da milhocina (corn steep liquor – CSL), um subproduto obtido do processamento e moagem do milho, como fonte alternativa de nitrogênio e carbono para a produção de pigmentos e antibióticos (inclusive por actinobactérias), (Basto et al., 2022), devido a elevada concentração de nutrientes como aminoácidos livres, carboidratos, proteínas e vitaminas (Zhou et al., 2022; Leila et al., 2021).

Esses resíduos também são utilizados na produção de proteínas, ácidos orgânicos, enzimas, oligossacarídeos, metabólitos secundários de interesse, prebióticos e, ainda, como fonte de carboidratos na produção fermentativa de etanol de segunda geração (Venil, Devi & Ahmad, 2020).

Na produção de pigmentos, em especial, devido à presença tanto de carboidratos quanto de proteínas, a milhocina é utilizada como fonte de carbono e nitrogênio, sendo o único substrato (Habibi et al., 2021), ou como coadjuvante do meio de crescimento (Leila et al., 2021).

Contudo, nem sempre a utilização de resíduos agroindustriais na formulação

do meio de cultura acarreta aumento na produção de pigmentos. Alguns micro-organismos aparentam utilizar melhor algumas fontes de carbono-nitrogênio em detrimento de outras. O fungo *Monascus ruber*, por exemplo, apresentou menor produção de pigmento quando o meio apresentava hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar (Ramesh et al., 2022).

Ademais, a utilização de resíduos agrícolas para produção de pigmentos provoca impacto positivo na aceitação dos pigmentos naturais por parte dos consumidores, ao passo que pode impactar significativamente o desenvolvimento de processos biotecnológicos para obtenção de moléculas de interesse. A compreensão do papel do pigmento para o desenvolvimento do micro-organismo no meio ambiente, bem como a elucidação de sua biossíntese pode auxiliar no planejamento das condições ideais de cultivo e otimização da produção e extração em condições controladas.

3.3 ACTINOBACTÉRIAS

3.3.1 Características gerais

Actinobactérias (filo Actinobactéria) são bactérias filamentosas capazes de produzir metabólitos secundários importantes, anteriormente designadas como actinomicetos (fungos) em função de suas características macroscópicas como a capacidade de produzir esporos e estruturas miceliais. Essas bactérias constituem um grupo diverso de micro-organismos procariontes, filamentosos, Gram-positivos, de crescimento lento, aeróbios ou anaeróbios, que possuem alto teor de Guanina-Citosina no DNA (maior que 55%) (Goodfellow, 2012; Lewin et al., 2016).

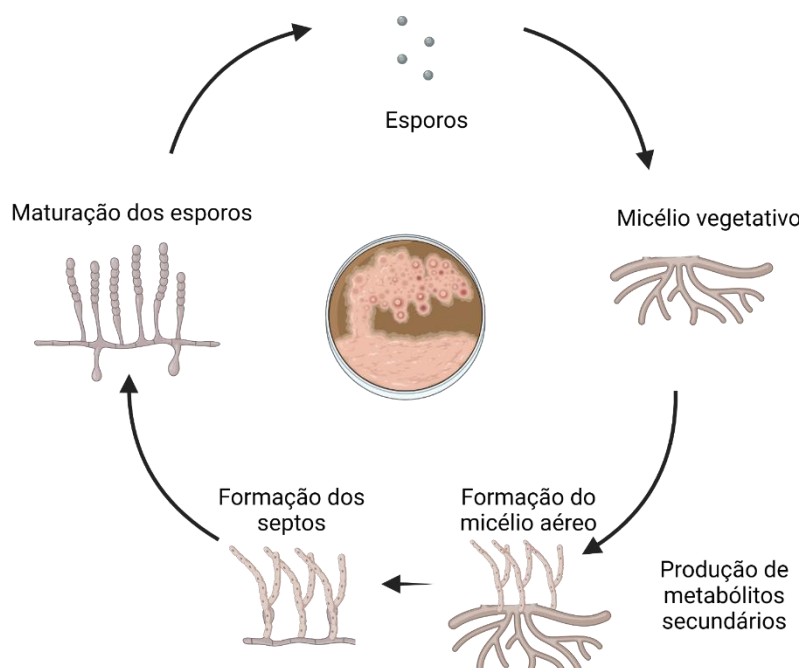
No domínio Bactéria, o Filo actinobactéria é considerado uma das maiores unidades taxonômicas. Esse filo engloba seis classes (Actinobacteria, Acidimicrobiia, Coriobacteriia, Nitriliruptorales, Rubrobacteria e Thermoleophilia), 5 subclasses, 6 ordens, 14 subordens (Ludwig et al., 2012) mais de 55 famílias, 240 gêneros e milhares de espécies.

Actinobactérias apresentam elevada variedade morfológica, incluindo pequenos cocos e bacilos a estruturas filamentosas complexas pluricelulares, capazes de produzir pigmentos de diversas cores (Whitman et al., 2012; van Bergeijk et al., 2020). Possuem parede celular complexa composta por peptideoglicanos, ácidos micólicos e outros compostos que conferem resistência e proteção além de ser fator de diferenciação taxonômica entre as diferentes espécies. Podem ser mesófilas

ou termófilas, e apresentam pH ideal de crescimento entre 6.0 e 9.0 (Gohain et al., 2020).

Esses micro-organismos apresentam ciclo de vida geralmente composto por duas etapas de crescimento: substratal primário (ou vegetativo) e o desenvolvimento de micélio aéreo (**Figura 1**). No desenvolvimento substratal, o esporo se estabelece no substrato sólido e origina as primeiras hifas (tubos germinativos) e o micélio substratal penetra o substrato com o auxílio de enzimas extracelulares que, em seguida, se propagam ao longo da superfície. Em seguida, a fase reprodutiva tem início com o desenvolvimento do micélio aéreo (podendo haver deposição de pigmentos), seguido do aparecimento das estruturas reprodutivas (Manteca & Sanchez 2010; Flardh & Buttner, 2009; Srinivasan, Laxman & Deshpande, 1991).

Figura 1. Esquema de desenvolvimento de actinobactérias



Fonte: a autora (2025) adaptado de Hamedi et al., 2017

Actinobactérias são, provavelmente, o grupo de procariotos mais utilizado pelos seres humanos devido sua alta capacidade de produção de metabólitos secundários bioativos de interesse como pigmentos, enzimas, antibióticos, agentes antifúngicos e anticancerígenos (Zaroubi et al., 2022). Dentre os principais grupos estudados, destacam-se alguns gêneros como *Streptomyces* sp., *Rhodococcus* sp., e *Nocardia* sp. (Zareenkousar et al., 2022). Alguns dos principais grupos produtores de metabólitos bioativos são listados na Tabela 1.

Tabela 1. Espécies de Actinobactérias produtoras de compostos bioativos.

Espécies de Actinomycetales	Número	Espécies de Actinomycetales	Número
Streptomycetaceae		Thermomonosporaceae	
Streptomyces	8000	Actinomadura	345
Streptoverlicillium	258	Saccharothrix	68
Kitasatospora	37	Microbispora	54
Chainia	30	Actinosynnema	51
Microellobospora	11	Nocardiopsis	41
Nocardioides	9	Microtetraspora/Nonomuria	26/21
Pseudonocardiaceae		Thermomonospora	19
Saccharopolyspora	131	Micropolyspora/Faenia	13/3
Amycalopsis/Nocardia	120/357	Thermoactinomyces	14
Kibdellosporangium	34	Thermopolyspora	1
Pseudonocardia	27	Thermoactinopolyspora	1
Amycolata	12	Outras espécies (não classificadas)	
Saccharomonospora	2	Actinosporangium	30
Actinopolyspora	1	Microellobospora	11
Mycobacteriaceae (Actinobacteria)		Frankia	7
Nocardia	357	Westerdykella	6
Mycobacterium	57	Kitasatoa	5
Arthrobacter	25	Synnenomyces	4
Brevibacterium	17	Sebekia	3
Proactinomyces	14	Elaktomyces	3
Rhodococcus	13	Excelsospora	3
Micromonosporaceae (Actinoplanetes)		Waksmania	3
Micromonospora	740	Alkalomyces	1
Actinoplanes	248	Catellatospora	1
Dactylosporangium	58	Erythrosporangium	1
Ampullariella	9	Streptoplanospora	1
Glycomyces	2	Microechinospora	1
Catenuloplanes	3	Salinospora	1
Catellatospora	1		
Streptosporangiaceae (Maduromycetes)			
Streptosporangium	79		
Streptoalloteichus	48		
Spirillospora	11		
Planobispora	10		
Kutzneria	4		
Planomonospora	2		

Fonte: Sharma, Dangi & Choudhary, 2014; Selim, Abdelhamid & Mohamed, 2021

O filo apresenta organismos reconhecidos pela sua ampla gama de benefícios, como *Streptomyces* sp., e gêneros como *Nocardia* sp. que engloba actinobactérias patogênicas para humanos e animais, capazes de causar infecções progressivas e invasivas como actinomictomas e nocardioses geralmente em pacientes imunodeprimidos (Singh, 2022; Nouioui et al., 2022).

Micro-organismos cosmopolitas, majoritariamente sapróbias, as actinobactérias já foram reportadas em diversos ecossistemas, incluindo pântanos, solos, lagos, lagoas e sedimentos marinhos (Nammali et al., 2022; Kramar & Kostic,

2022) bem como no interior de tecidos vegetais vivendo de forma mutualística, aumentando a absorção de nutrientes e aprimorando a defesa contra agentes patogênicos (Musa et al., 2020; Selim, Abdelhamid & Mohamed, 2021).

No ecossistema aquático, actinobactérias podem ser encontradas tanto em ambientes marinhos quanto dulcícolas (Selim, Abdelhamid & Mohamed, 2021). Actinobactérias marinhas são notadamente conhecidas por produzir antibióticos com estruturas químicas diversas, sendo de particular importância em aplicações biológicas e biotecnológicas (Selim, Abdelhamid & Mohamed, 2021). Micro-organismos advindos desse meio apresentam a capacidade de crescer em condições extremas de temperatura, pressão e salinidade, sendo as bactérias o grupo mais dominante (Abdelmohsen, Bayer & Hentschel, 2014).

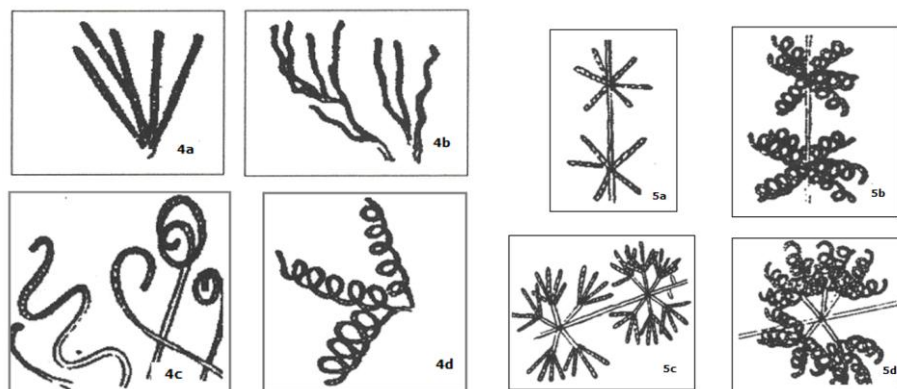
Ademais, o filo das actinobactérias embora bastante estudado, possui muitas espécies ainda pouco exploradas ou até mesmo desconhecidas, descritas como gêneros raros. Segundo Selim e colaboradores (2021) dentre as actinobactérias isoladas do ambiente marinho foram reportadas 83 espécies pertencentes a 28 diferentes gêneros sendo a maioria novas espécies (Selim, Abdelhamid & Mohamed, 2021).

A identificação de actinobactérias considera principalmente suas características morfofisiológicas e aspectos da cultura, associadas a testes bioquímicos e análises moleculares. Os critérios morfológicos incluem a observação do desenvolvimento de micélios aéreos, conformação do micélio, ramificação, fragmentação, e produção de esporos. Os esporos podem apresentar diferentes arranjos e número, podendo ser únicos, em pares longitudinais, em cadeias, ou contidos dentro de estruturas denominadas esporângios. Quanto ao arranjo, as cadeias de esporos podem ser simples ou verticiladas (Figura 2). As cadeias simples podem apresentar esporos eretos, flexíveis, retinaculum-apertum ou espirais. As cadeias verticiladas se caracterizam pela presença de um verticilo verdadeiro com um eixo principal maior do que as ramificações e espaço uniforme entre os verticilos, podendo ser classificada como monoverticilos, monoverticilos espirais, bivericilos e Bivericilos espirais (Shirling & Gottlieb, 1996).

Além disso observações adicionais como a coloração da massa dos esporos, análises da superfície destes, verificação da produção de pigmentos e do comportamento bioquímico, como capacidade de degradação de substâncias,

utilização de fontes de carbono e nitrogênio, entre outros ensaios genéticos, fornecem informações importantes à sua para a identificação destes micro-organismos. A classificação das actinobactérias também é recorrentemente realizada com base na avaliação do gene 16S rRNA (Pongen et al., 2023; Barka et al., 2016).

Figura 2. (A) tipos de arranjos de cadeias de esporos simples: (1a) Cadeia reta; (1b) cadeia flexível; (1c) cadeia “Retinaculum-apertum”; (1d) Cadeia em espiral; (B) Tipos de arranjos de cadeias Verticiladas: (2a) Monoverticilo; (2b) Monoverticilo em espiral; (2c) Biverticilo; (2d) Biverticilo espiral.



Fonte: (Shirling & Gottlieb, 1996)

3.3.2 Gênero *Streptomyces*

O gênero *Streptomyces* se destaca dentre as actinobactérias por conta da ampla utilização de seus metabólitos secundários em diversas áreas como indústria, alimentos, fármacos e cosméticos (Alzahrani et al., 2021; Chinnappa et al., 2024).

Espécies do gênero *Streptomyces* sp. são responsáveis por grande parte da produção de metabólitos bioativos de importância clínica e industrial, incluindo antibióticos (como a estreptomicina) e respondem por aproximadamente 80% de todas as actinobactérias reportadas como fontes de produtos naturais bioativos (enzimas, antibacterianos, antifúngicos, anticancerígenos, antioxidantes, pigmentos entre outros) (Bhakyashree & Kannabiran, 2020).

A produção de metabólitos de interesse por parte de *Streptomyces* sp. ocorre durante o crescimento secundário, quando o micro-organismo já está estabelecido em seu substrato e os nutrientes ficam limitados (Tenconi et al., 2020). Frequentemente espécies como *S. coelicolor*, *S. spectabilis*, *S. alboflavus*, *S. chromofuscus*, *S. griseoviridis* e *S. longispororuber* exibem colônias pigmentadas e produzem metabólitos com propriedades antioxidantes, antimicrobianas, nematicidas e antitumorais.

Atividades antimicrobianas de pigmentos como prodigiosina, espectabilina, undecilprodigiosina, estreptorrubina B e metacicloprodigiosina foram reportadas frente à fungos e bactérias fitopatogênicas e micro-organismos de importância clínica como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* e *Escherichia coli* (Gacem *et al.*, 2020; Meng-Xi *et al.*, 2021; Bashir, Numan e Shinwari *et al.*, 2022).

Considerando a atividade nematicida, *S. spectabilis* é reconhecidamente produtor de vários pigmentos como espectabilina, estreptorrubina B e undecilprodigiosina que demonstraram forte atividade contra *Bursaphelenchus xylophilus* nematódeo responsável pela murcha do pinheiro em *Pinus densiflora* (Yi *et al.*, 2022). Atividade antioxidante, por sua vez, foi reportada por Gacem e colaboradores (2020) em extrato bruto composto obtido de *Streptomyces* V₀₀₂. Diante das diversas atividades biológicas demonstradas por metabólitos secundários extraídos de *Streptomyces*, a pesquisa com esses micro-organismos pode gerar vários compostos de interesse com ampla aplicação médica e biotecnológica.

3.4 PRINCIPAIS PIGMENTOS PRODUZIDOS POR ACTINOBACTÉRIAS

As actinobactérias se destacam na produção de pigmentos microbianos por sua versatilidade metabólica e ecológica, além da possibilidade de otimização das condições de cultivo (Ramesh *et al.*, 2019). Prodigininas, violaceína, carotenóides, melaninas, azafilonas, ficocianina, ficoeritrobilina, e riboflavina, são alguns dos pigmentos que têm despertado o interesse do mercado global, como produtos de valor agregado e medicinal (Ramesh *et al.*, 2022).

Dentre os pigmentos mais comuns produzidos por micro-organismos, destacam-se as melaninas, os carotenoides, pigmentos azuis associados à actinorodina, quinonas e prodigiosinas (prodigininas) (Pailliè-Jiménez, Stincone & Brandelli, 2020). Os pigmentos melanóides apresentam cores variadas do preto ao verde-oliva, passando pelo marrom, os carotenoides podem ser vermelhos, amarelos, rosas e até mesmo violeta. Já as prodigininas são pigmentos vermelhos alcalóides e hidrofóbicos produzidos por diversos gêneros bacterianos incluindo actinobactérias e associados à diversas atividades biológicas (Barreto *et al.*, 2023).

Carotenoides são pigmentos da classe dos isoprenóides sintetizados, principalmente, por plantas, bactérias, algas e fungos (Monte *et al.*, 2020).

Estruturalmente, estes pigmentos podem ser divididos em dois grandes grupos: 1) carotenos (hidrocarbonetos carotenoides) e 2) xantofilas que são derivados do primeiro grupo acrescidos de, no mínimo, um grupo funcional oxigenado como cetona, grupos hidroxila, metoxi ou ácido carboxílico (Saini & Keum, 2019). Estes pigmentos são normalmente encontrados na forma livre ou esterificados com ácidos graxos, sendo sua identificação um desafio em muitas circunstâncias (Mercadante et al., 2017; Dufossé, 2018; Mussagy, Khan & Kot, 2021).

Os carotenóides produzidos por actinobactérias, geralmente, pertencem a três diferentes grupos: a) carotenoides C50, b) carotenoides que apresentam grupos terminais aromáticos e c) ceto-carotenoides como a cantaxantina ou derivados monocíclicos de ceto- γ -caroteno (Sandmann, 2021). Pigmentos como a astaxantina (3,3'-di-hidroxi- β , β' -caroteno-4,4'-diona), ceto-carotenoide vermelho alaranjado, o β -caroteno (precursor da vitamina A (retinol)), e o licopeno ($C_{40}H_{56}$) (Classificado como nutriente classe A pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) (Liang et al., 2019; Grewal et al., 2022) apresentam benefícios à saúde humana (Mussagy, Khan & Kot, 2021) contra doenças relacionadas à idade (Alugoju et al., 2022), efeitos anti-inflamatórios, efeitos anticancerígenos e na redução dos sintomas da doença de Alzheimer (Harvey & Ben-Amotz, 2020). Sua utilização e aceitação como suplementação alimentar funcional para humanos foi iniciada em 1990 (Cao et al., 2021). Pigmentos microbianos pertencentes ao grupo dos carotenoides já demonstraram apresentar atividades antioxidantes sendo seguros para uso nas indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e têxtil (Rather et al., 2023). A luteína ($C_{40}H_{56}O_2$) juntamente com a astaxantina e o β -caroteno são os pigmentos mais valiosos para o mercado global de corantes e, acredita-se, pode atingir uma taxa de crescimento anual de quase 7% em 2026 (Nawaz et al., 2021).

Os pigmentos melanóides, do mesmo modo, são altamente eficientes no bloqueio da radiação UV e, para os micro-organismos, tem como função protegê-los de condições ambientais adversas (Ghattavi et al., 2022; Sheefaa & Sivaperumal, 2022). A melanina pode ser encontrada em três formas distintas de acordo com a estrutura dos seus monômeros: a eumelanina, alomelanina (coloração marrom ou preta) e feomelanina (vermelho/amarelo) (Sundar & Sivaperumal, 2022), além de outros dois tipos, a piomelanina e a neuromelanina (Solano, 2020; Singh et al., 2021).

Eumelanina, feomelanina e neuromelanina são majoritariamente encontradas

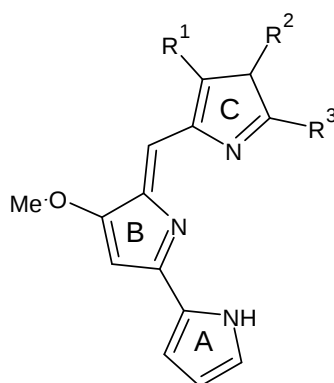
em tecidos animais, enquanto a alomelanina e a piomelanina são mais observadas em plantas e micro-organismos (Cao et al., 2021). Além da pigmentação, as vias biossintéticas relacionadas a produção destes pigmentos melanoides também são diferentes. A produção de eumelanina ocorre, primordialmente, por meio da oxidação de L-tirosina em L-DOPA com ação da enzima tirosinase e, de modo semelhante, a feomelanina é obtida a partir da polimerização oxidativa de conjugados cisteinil-DOPA via intermediários benzotiazínicos (Solano, 2020; Cao et al., 2021). A alomelanina e a piomelanina, por sua vez, são consideradas melaninas livres de nitrogênio, sendo a alomelanina produzida por meio da oxidação de alguns difenóis (como o catecol e 1,8 di-hidroxinaftaleno) e a piomielina advinda do ácido homogentísico (HGA) (Singh et al., 2021; Cao et al., 2021).

3.4.1 Prodigininas

3.4.1.1 Características gerais

As prodigininas são uma ampla família de pigmentos naturais caracterizados pela presença de um esqueleto pirrólico e grupos alquil. A principal e primeira molécula desse grupo, a prodigiosina, foi reportada em 1929 sendo isolada da bactéria *Serratia marcescens*, tendo sua estrutura química desvendada em 1962 (Wrede e Hettche 1929; Rapoport e Willson 1962). Desde então, ao menos 33 prodigininas foram identificadas e isoladas de diversos gêneros bacterianos como *Serratia*, *Hahella*, *Pseudoalteromonas*, *Vibrio*, *Zooshikella*, *Streptomyces*, e *Actinomadura* sendo a característica marcante em todas elas a presença de um arranjo de três anéis pirróis (Li et al., 2022) denominados de A, B e C (Figura 3).

Figura 3. Estrutura tripirrólica característica das prodigininas

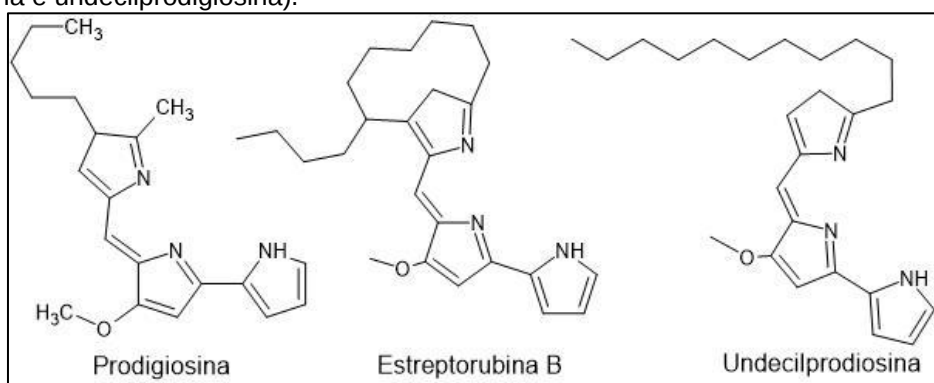


Fonte: autora, 2025

O arranjo dos três anéis pirrólicos, o comprimento da cadeia alquil e a

conformidade da molécula são fatores que determinam as diferentes prodigininas. Na prodigiosina, por exemplo, o anel A é um composto pirrol, o B é o 3-metoxipirrol e o anel C é definido como 2-metil-3-pentilpirrol (Han et al., 2021). Estruturalmente as prodigininas podem ser divididas em cíclicas e lineares, sendo alguns exemplos demonstrados na Figura 4. Prodigininas lineares, normalmente, apresentam diferentes comprimentos das cadeias de alquil dos radicais R1 e R2 do anel C. Por outro lado, prodigininas cíclicas apresentam duas configurações distintas: uma na qual o anel C possui uma cadeia cíclica externa, como a estreptorrubina B, e outra que apresenta uma ligação de cadeias alquil entre os anéis A e C, como a cicl-nonilprodigiosina, por exemplo (Li et al., 2022; Lu et al., 2024).

Figura 4. Estrutura química de algumas das prodigininas cíclicas (estreptorrubina B) e acíclicas (prodigiosina e undecilprodigiosina).



Fonte: a autora

A conformação estrutural dos grupos ligados aos anéis pirrólicos está diretamente relacionada com as propriedades biológicas exibidas pelas prodigininas. Segundo dados da literatura por meio de estudos com prodigininas sintéticas, a presença do átomo de nitrogênio no anel A é necessária, por exemplo, para a efetiva atividade antimalárica, enquanto a existência de um radical na posição β' no anel C diminui tal atividade (Marchal et al., 2014; Weber et al., 2023). Assim, quaisquer alterações nos radicais ligantes podem afetar as propriedades dos compostos.

Pirróis de ocorrência natural aparecem como núcleo estrutural em muitas moléculas bioativas. São compostos orgânicos heterocíclicos com anéis de cinco membros (um átomo de nitrogênio e quatro de carbono), aromáticos e ricos em elétrons. Apresentam propriedades interessantes e podem atuar como corantes naturais funcionais, antifúngicos, anti-inflamatórios, antioxidantes, antitumorais e quimiossensores para bioimagens em células vivas de carcinoma hepatocelular humano (Brandner e Müller, 2023).

Diversas fontes vêm sendo investigadas quanto a produção destes compostos devidos as diversas funcionalidades que apresentam e seu potencial para aplicações nas indústrias têxtil, alimentícia e de cosméticos. Apesar da síntese química ser possível, a maioria das prodigininas são obtidas de fontes naturais, principalmente produzidas por bactérias. A prodigiosina, principal molécula da família, é majoritariamente extraída da bactéria *S. marcescens*. Contudo alguns autores apresentam ressalvas quanto à sua utilização comercial devido a sua relação com quadros de infecções nosocomiais (IRAS) (Alzahrani et al., 2021).

Assim como outros biopigmentos, as prodigininas, além da capacidade de conferir e intensificar cores, também exibem propriedades funcionais interessantes para a indústria e que impactam positivamente na saúde humana (Tabela 2). Propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antitumorais e antiparasitárias já foram reportadas e investigadas (Li et al., 2022; Han et al., 2021; Metwally et al., 2021).

Tabela 2. Atividades biológicas e fontes de extração de algumas prodigininas

PRODIGININA	FONTE	ATIVIDADE BIOLÓGICA	REFERÊNCIA
Prodigiosina	<i>Serratia marcescens</i>	Atividade anicancerígena contra células resistentes de carcinoma urotelial Atividade antiparasitária contra <i>Trypanosoma cruzi</i>	Berning et al., (2021) Herráez et al., (2021)
Undecilprodigiosina	<i>Streptomyces</i> spp.	Antioxidante e antibacteriana. Usada como corante alimentício.	Sen, Barrow & Deshmukh (2019)
Metacicloprodigiosina	<i>Streptomyces</i> sp. V ₀₀₂	Antioxidante e antibacteriana	Gacem et al., (2020)
Estreptorrubina B	<i>Streptomyces</i> sp. MC11024	Anti-biofilme	Suzuki et al., (2015)
Cicloprodigiosina	<i>Pseudoalteromonas rubra</i>	Antimicrobiana	Setiyono et al., (2020)
Nonilprodigiosina e Ciclononilprodigiosina	<i>Actinomadura</i> sp. (BRA-177)	Anti-cancerígena contra melanoma.	Branco et al., (2020)

Cicloheptilprodigiosina	<i>Spartinivacinus ruber</i> MCCC 1K03745	Atividade anticancerígena contra câncer de pulmão.	Lin et al., (2024)
-------------------------	--	--	--------------------

Fonte: a autora

Propriedades antioxidantes das prodigininas estão relacionadas, dentre outros fatores, à sua capacidade de neutralizar Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e radicais livres provenientes do metabolismo energético, atenuando o estresse oxidativo. Nesse particular, as pesquisas focam na utilização dessas moléculas como aditivos alimentares e na composição de cremes de proteção solar e cosméticos (Kiki, 2023). No que se refere à conservação de alimentos, é possível citar o exemplo da prodigiosina como conservante em salsichas. Nesse caso, o pigmento pode substituir o nitrito de sódio, conservante potencialmente cancerígeno, no papel de diminuir a possibilidade da oxidação lipídica, processo que acarreta a formação de diversas substâncias tóxicas (Choe, 2022).

A criação animal também pode se beneficiar das propriedades funcionais das prodigininas. Estudo desenvolvido por Abdelnour e colaboradores (2020) demonstrou redução dos níveis de citocinas inflamatórias, maior crescimento e estado geral de saúde de coelhos alimentados com ração acrescida de prodigiosina.

Outra função bastante explorada e evidenciada em estudos com prodigininas bacterianas é a capacidade de impedir o crescimento ou eliminar micro-organismos patogênicos. Nos últimos anos a resistência bacteriana aos antibióticos já conhecidos vem aumentando sendo motivo de preocupação em saúde pública por todo o mundo. Tal cenário incentiva a pesquisa e descoberta de novos fármacos e substâncias antibióticas. Nesse sentido, as prodigininas representam compostos com grande potencial de efeito frente à micro-organismos patogênicos.

Efeitos bacteriostáticos e bactericidas já foram demonstrados frente a micro-organismos patogênicos como *Staphylococcus aureus* multi-resistente (MRSA), *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium e *Candida albicans* (Huang et al., 2020; Yip et al., 2021; Lu et al., 2024).

Os efeitos antibióticos das prodigininas podem ocorrer de formas variadas. Os principais são alteração do pH citoplasmático, clivagem do DNA, alteração da bicamada lipídica ocasionando a ruptura da membrana, indução de espécies reativas de oxigênio (ERO) e alteração do metabolismo microbiano (mitocondrial, golgiense e

do retículo endoplasmático) (Choi et al., 2021; Herráez et al., 2021).

Considerando a estrutura química, geralmente, prodigininas cíclicas são mais efetivas quando comparadas com prodigininas lineares (acíclicas). É caso, por exemplo, da cicloheptilprodigiosina e da heptilprodigiosina. Quando investigado o efeito antibiótico frente a quatro micro-organismos (*S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* e *C. albicans*) a heptilprodigiosina demonstrou efeitos em apenas dois dos micro-organismos testados, enquanto a cicloheptilprodigiosina, foi efetiva na inibição do crescimento de todos os patógenos estudados (Huang et al., 2020).

Outra característica que interfere na ação antibiótica das prodigininas é a estrutura da parede celular bacteriana. Pesquisas apontam que bactérias Gram positivas são mais suscetíveis às ações das prodigininas que bactérias Gram negativas. É o caso da undecilprodigiosina, por exemplo, que apresenta uma Concentração Mínima Inibitória (CMI) ligeiramente superior frente a bactérias Gram negativas (0,5 a 2,0 µg/mL), enquanto o maior valor frente à Gram positivos chega a 4,0 µg/mL (Alzahrani et al., 2021). Essa diferença, apontam os pesquisadores, pode estar relacionada à parede extra lipopolissacarídica presente nas bactérias Gram negativas que dificulta a penetração da prodiginina e sua chegada até a membrana plasmática (Arivizhivendhan et al., 2018). Assim, nas bactérias Gram positivas as prodigininas atuam predominantemente por um mecanismo físico, provocando a ruptura da parede celular, enquanto, nas bactérias Gram negativas, elas podem impactar a expressão gênica e a produção de proteínas, resultando em alterações metabólicas e no ciclo celular (Araújo et al., 2022; Metwally et al., 2021).

Efeitos citotóxicos contra células tumorais também é outra propriedade bastante estudada e explorada das prodigininas. Muitas moléculas têm sido reportadas como efetivas na destruição de células cancerígenas e, ao mesmo tempo, aparentam ter efeitos mínimos em células saudáveis (Berning et al., 2021). Dentre as prodigininas já estudadas pelos seus efeitos anticarcinogênicos, é possível citar a prodigiosina, undecilprodigiosina, cicloheptilprodigiosina, ciclonoilprodigiosina e nonilprodigiosina (Arshadi et al., 2021; Branco et al., 2020).

Considerando os mecanismos de ação citotóxica, as prodigininas podem atuar na clivagem do DNA, na acidificação do pH intracelular e na modulação de proteínas como quinases e a survivinas, importantes no sistema de apoptose celular (Pérez-Tomás & Viñas, 2010; Branco et al., 2020). Além dos mecanismos diretos de citotoxicidade, as prodigininas também podem atuar intensificando os efeitos de

medicamentos já existentes. É o caso da prodigiosina que pode ser utilizada para potencializar os efeitos imunossupressores da ciclosporina A e a rapamicina (Anwar et al., 2022) e atuar sensibilizando células tumorais para a ação da 5-fluorouracil e cisplatina, dois agentes quimioterápicos (Berning et al., 2021; Zhao et al., 2020).

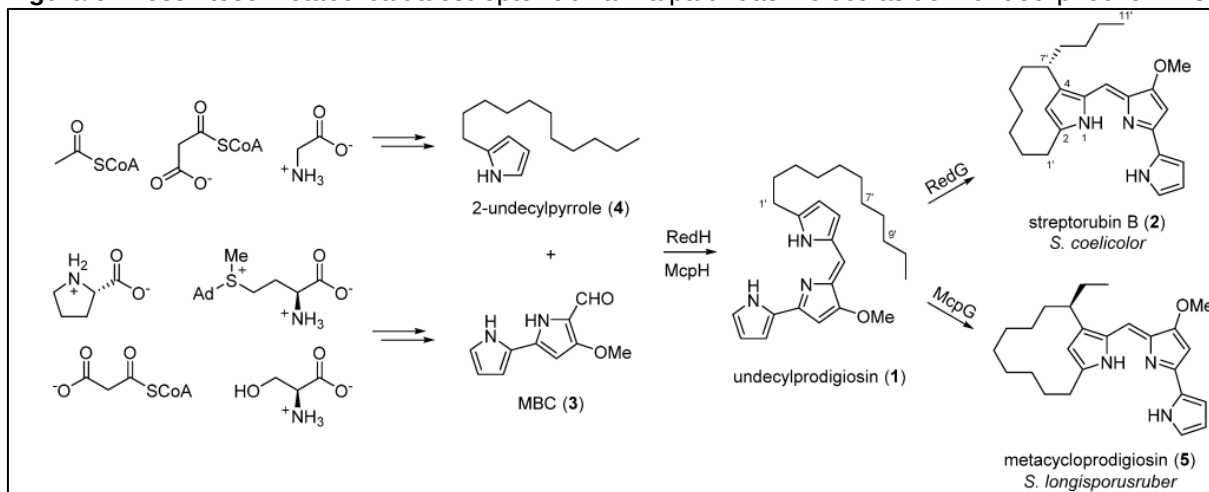
Vermes e protozoários também podem ser combatidos utilizando as prodigininas. Protozoários como *Trypanosoma cruzi* e *Plasmodium* sp. e nematóides como *Caenorhabditis elegans* e *Heterodera schachtii* já demonstraram sensibilidade frente à prodigiosina, cicloprodigiosina, undecilprodigiosina e estreptorrubina B (Li et al., 2022; Herráez et al., 2021; Kancharla et al., 2021). No caso do *T. cruzi*, a prodigiosina afetou o metabolismo mitocondrial e interferiu na taxa respiratória de epimastigotas e amastigotas ocasionando sua morte, superando os efeitos do benznidazol, droga medicamentosa utilizada como referência (Herráez et al., 2021). No caso de nematóides, como o *C. elegans* e *H. schachtii*, houve diferenças na ação biocida da prodigiosina por conta, dentre outros fatores, dos diferentes hábitos alimentares dos nematódeos (Habash et al., 2020).

Ao longo dos últimos anos os efeitos antiparasitários, anti-inflamatórios, antioxidantes, anticancerígenos e antibióticos das prodigininas vem sendo amplamente demonstrados e documentados, sendo suas aplicações as mais diversas. Dessa forma, esse conjunto de pigmentos vermelhos, alcalinos e hidrofóbicos podem ser considerados para as mais diferentes áreas e aplicações biotecnológicas.

3.4.1.1 Estreptorrubina B: Características gerais

A estreptorrubina B compreende uma prodiginina cíclica derivada da undecilprodigiosina via carbociclicização oxidativa e apresenta um anel externo ligado ao anel C. A biossíntese da molécula ocorre a partir da condensação de 2-undecilpirrol (UP) e 4-metoxi-2,2'-bipirrol-5-carboxaldeído (MBC) catalisada pelo complexo enzimático RedH (Figura 5) originando a undecilprodigiosina a qual é oxidada pelo RedG para, finalmente, formar a estreptorrubina B (Withall et al., 2015). Até o momento, apenas espécies de *Streptomyces* sp. foram reportadas como produtoras dessa molécula.

Figura 5. Biossíntese metabólica da estreptorrubina B a partir das moléculas de 2-undecilpirool e MBC.



Fonte: Withall et al., 2015

Pouco se conhece a respeito das atividades biológicas da estreptorrubina B, uma vez que o seu relato na literatura é limitado. Por anos, essa molécula foi confundida com outra prodiginina, a butilcicloheptilprodiginosina, que pode justificar o pouco conhecimento sobre suas características. Contudo, nos estudos que relatam a sua obtenção, são verificadas atividades antitumorais, nematicidas e antibióticas (Suzuki et al., 2015; Xiao et al., 2016; Yi et al., 2022).

A estreptorrubina B tem demonstrado maior efetividade frente a biofilmes bacterianos do que células livres (Suzuki et al., 2015). A capacidade da molécula de quelar metais, clivar o DNA e interferir na respiração celular e síntese proteica pode justificar a ação mais proeminente em agregados celulares (Herráez et al., 2019). Atividade anti-nematoide foi reportada contra *Bursaphelenchus xylophilus*, parasita de certas espécies de pinheiros (Yi et al., 2022).

Além disso, a estreptorrubina B apresenta análogos estruturais com bioatividades vantajosas. É o exemplo do Obatoclax (GX15-070), fármaco derivado estruturalmente da estreptorrubina B que demonstra efeitos antiproliferativos em casos de leucemia linfocítica crônica (Xiao et al., 2016). O efeito anticarcinogênico da estreptorrubina B está relacionado à capacidade da molécula de inibir a atividade da Bcl-2, envolvida no processo de apoptose celular, capacidade aumentada no fármaco obatoclax.

Considerando as diversas atividades biológicas da estreptorrubina B, a investigação de novas fontes promissoras e sua correta caracterização pode

direcionar o desenvolvimento de moléculas bioativas para os mais diversos setores.

3.5 MODELOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS MAMÍFEROS

As atividades biológicas de pigmentos microbianos têm sido amplamente investigadas em diversas pesquisas. Ao se investigar uma nova molécula, estudos de toxicidade devem ser realizados para garantir a segurança na sua utilização. Diversos modelos incluindo animais vertebrados são utilizados com esta finalidade, contudo, atualmente busca-se uma redução na utilização destes através do conceito dos 3Rs, que visa reduzir o número de animais mamíferos utilizados e substituir estes por modelos alternativos (Ramesh et al., 2022).

A utilização de animais em pesquisas é regida por leis e diretrizes específicas. No Brasil, a lei Arouca, nº 11.794/2008 culminou na criação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e em 2012 da rede nacional de métodos alternativos (RENAMA) (BRASIL, 2008).

Métodos alternativos validados e reconhecidos foram definidos na resolução nº 54/2022, pelo CONCEA (BRASIL, 2022). Na referida resolução, o conselho orienta a adoção de metodologias que tenham sido validadas por estudos colaborativos internacionais e que: não utilizem animais, usem espécimes de ordens inferiores, empreguem menor número de animais, utilizem sistemas orgânicos *ex vivo* diminuindo ou eliminando o desconforto. Adicionalmente, o uso de animais em pesquisas científicas de produtos de higiene pessoal, cosméticos, perfumes e afins foi proibido no Brasil, em 2023 com a resolução de nº 58/2023 CONCEA, reforçando assim a busca por modelos experimentais alternativos (BRASIL, 2023).

Alguns modelos alternativos têm sido explorados em pesquisas científicas, como *Galleria mellonella*, *Caenorhabditis elegans*, *Danio rerio* (zebrafish), *Panagrellus redivivus*, *Drosophila melanogaster* e *Biomphalaria glabrata* (Champion, Titball & Bates, 2018). Estes modelos possuem dentre outras vantagens, o menor custo, crescimento rápido, facilidade de manuseio, crescimento em tempo e espaço reduzido, além de não possuírem restrições éticas se comparado aos modelos com mamíferos (Singulani et al., 2018).

3.5.1 Modelo de *Galleria mellonella*

As larvas de *Galleria mellonella*, são sistemas modelos já amplamente estudados e com aplicações variadas que ajudam a reduzir a demanda de modelos vertebrados, além de estarem disponíveis em número e baixo custo (Serrano et al., 2023). *G. mellonella* é um modelo que pode ser utilizado para o *screening* de possíveis agentes antimicrobianos, análise de virulência, verificação da toxicidade, avaliação de terapia fotodinâmica, entre outros ensaios, apresentando respostas rápidas e de baixo custo (Serrano et al., 2023). Seu tamanho proporciona a utilização em metodologias que requerem maior quantidade de hemolinfa, hemócitos e demais fatores. As larvas de *G. mellonella* são importantes modelos para compreender respostas imunes a infecção por conta das semelhanças com a imunidade inata de mamíferos (Smith et al., 2022).

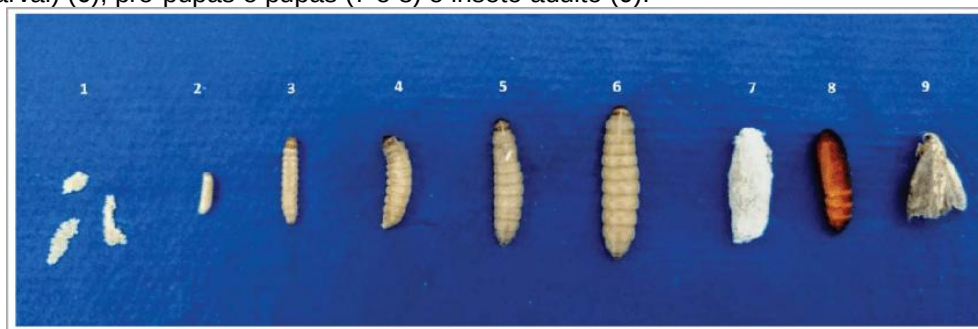
Galleria mellonella é um inseto da ordem Lepidoptera e da família Pyralidae que vem sendo cada vez mais utilizada como modelo para estudo de fatores de virulência e patogênese de organismos como fungos e bactérias e diferentes moléculas, por possuir, dentre outros fatores, um sistema imune funcional e estruturalmente semelhante ao sistema imunológico inato dos mamíferos, fornecendo uma avaliação rápida, barata e confiável da toxicidade *in vivo* (Eskin et al., 2019; Marcelino et al., 2021).

A larva do inseto, que é utilizada para estudos toxicológicos, apresenta baixo custo de aquisição e armazenamento, são facilmente manipuláveis e não estão sob restrições éticas ou legais (Piatek, Sheehan & Kavanagh, 2021), o que as torna um modelo bastante acessível para ensaios de toxicidade. O ciclo de vida completo de *G. mellonella* ocorre entre 8 e 12 semanas sob condições favoráveis de temperatura e umidade, sendo a temperatura de armazenamento próximo a 15 °C, podendo ser mantidas após a inoculação em até 37 °C (Kavanagh & Reeves, 2004; Firacative et al., 2020). *G. mellonella* apresenta diferentes estágios de desenvolvimento, sendo 7 ínstaes entre a fase de ovo e o estágio adulto (Figura 6) (Firacative et al., 2020). Os ovos são brancos a rosa claro e eclodem em 5 a 8 dias (24 a 27 °C) para se transformar em larvas branco-creme com aproximadamente 23 mm (Jorjão et al., 2018).

Para a realização de ensaios de toxicidade são, geralmente, empregadas larvas após seu 6º instar, quando apresentam 3 cm de comprimento e,

aproximadamente, de 200 a 300 mg de peso corporal (Kavanagh & Reeves, 2004; Firacative et al., 2020).

Figura 6. Diferentes estágios de desenvolvimento de *Galleria mellonella*. Ovos (1), larva com 10 dias (2), larva com 20 dias (3), larva entre 25-35 dias (4 e 5), larva com aproximadamente 40 dias (último estágio larval) (6), pré-pupas e pupas (7 e 8) e inseto adulto (9).



Fonte: Jorjão et al., 2018

Adicionalmente, a hemolinfa é composta por hemócitos com funções distintas, pertencentes a classes específicas: prohemócitos, plasmatócitos, granulócitos, coagulócitos, esferulócitos e oenocitóides (Jorjão et al., 2018).

Embora insetos não produzam anticorpos, as defesas imunes destes organismos envolvem processos imunológicos inatos humorais e mediados por células. Os hemócitos são células imunológicas que circulam na hemolinfa e possuem papéis comparáveis aos dos macrófagos e neutrófilos. São responsáveis pela liberação extracelular de espécies reativas de oxigênio (ERO), liberação de moléculas inflamatórias, além da criação de granulomas pelo mecanismo de nodulação, onde são liberados e ativados fatores de coagulação, enzimas e complexos imunes (Smith et al., 2022; Serrano et al., 2023).

Uma das classes de enzimas que são liberadas durante a lise e nodulação são as fenoloxidasas, enzimas responsáveis pela conversão de catecolaminas da hemolinfa em DOPA melanina, pigmentos marrom-escuros que contribuem para defesa imunológica do inseto e reparo de feridas. A melanização, além de atuar como barreira física, capaz de restringir a absorção de nutrientes e as trocas gasosas, produz espécies reativas e intermediárias citotóxicas que contribuem para a morte do agente invasor (Smith et al., 2022). Dessa forma, a melanização da larva indica a reação com a molécula administrada e avaliada.

3.5.2 Modelo *Caenorhabditis elegans*

Outro modelo alternativo de ensaios de toxicidade utiliza o nematódeo

Caenorhabditis elegans, invertebrado não patogênico, de vida livre, cujo verme adulto apresenta, aproximadamente, 1mm de comprimento e que pode ser manipulado em cultura líquida (Wittkowski et al., 2019). Apesar de ser um organismo simples (com apenas 959 células somáticas em adultos) apresenta tecidos especializados que funcionam de maneira semelhante aos órgãos dos vertebrados (Hunt, Camacho & Sprando, 2020). Além de tecidos especializados, também exibe sistemas reprodutivo, digestivo e nervoso completo, são de fácil cultivo, apresentam curto tempo de vida e geracional além de possuir uma alta fecundidade (Yao, Zhang & Tang, 2022). *C. elegans* é um sistema modelo composto por fases de desenvolvimento bem conhecidas que vem sendo utilizado na descoberta de novos compostos bioativos em estudos de toxicidade, imunidade e farmacogenética (Lazic et al., 2022).

A cutícula transparente facilita a visualização de mudanças na morfologia tecidual e alterações nos órgãos no mesmo animal ao longo do tempo (Hunt, Camacho & Sprando, 2020). Se alimentam de bactérias como, por exemplo, a *Escherichia coli* e as semelhanças entre seu trato digestivo e o trato digestivo dos humanos, as tornam um modelo promissor para estudo da relação entre hospedeiro-parasita (nesse caso, os micro-organismos) e seus benefícios para a digestão, absorção de nutrientes e proteção contra agentes patogênicos (Kumar et al., 2019).

Devido ao seu tamanho reduzido, pode ser cultivado em placas multipoços, semelhante aos ensaios *in vitro*, sendo possível a avaliação de várias substâncias em diversas larvas ao mesmo tempo (Wittkowski et al., 2019). Dessa forma a utilização de *C. elegans* pode preencher uma lacuna e se tornar uma ponte entre os ensaios *in vitro* e *in vivo* na medida que une as vantagens dos ensaios em mamíferos mais complexos com as dos ensaios *in vitro* (como necessidade de pouco espaço, p. ex.) (Wittkowski et al., 2019).

3.5.3 Modelo *Biomphalaria glabrata*

O molusco *Biomphalaria glabrata* constitui alternativa a ensaios de toxicidade *in vivo* com mamíferos vertebrados. Trata-se de uma espécie herbívora e dulcícola que, quando adultos, possuem uma concha de até 40 mm de diâmetro e 11 mm de largura (Souza-Silva et al., 2023). Na fase embrionária é possível observar diferentes estágios como: blástula, gástrula, trocófora, veliger e hippo stage (Batista et al., 2022). As características apresentadas por *B. glabrata* como sensibilidade celular estrutural

e genética à exposição a componentes tóxicos caracterizam a espécie como um biomonitor eficiente. A utilização como modelo experimental se justifica por conta da possibilidade de, em laboratório, serem utilizados como indicador ambiental de diversos poluentes, além da viabilidade de se utilizar desde embriões até indivíduos adultos (de Siqueira et al., 2021).

É um modelo ecotoxicológico que pode ser utilizado em ensaios de toxicidade, embriotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e bioacumulação (de Siqueira et al., 2021) pois possui os mecanismos imunológicos elucidados permitindo a interpretação dos resultados toxicológicos. Moluscos adultos podem ser utilizados para ensaios de bioacumulação, os embriões para ensaios de embriotoxicidade e os hemócitos (células circulares da hemolinfa) são utilizados para averiguar citotoxicidade e genotoxicidade.

Os hemócitos são células livres nucleadas que circulam na hemolinfa de artrópodes, moluscos e insetos sendo responsáveis, primordialmente, pelo transporte de gases respiratórios além de participar da resposta imunológica e do processo de desintoxicação por meio do acúmulo de xenobióticos (Machalowski & Jesionowski, 2021). Por conta de sua atividade fagocítica, assim como os macrófagos humanos, os hemócitos fagocitam substâncias exógenas e a quantidade dos mesmos antes e depois da exposição é utilizada para mensurar a toxicidade de diferentes substâncias (Souza-Silva et al., 2023). Porém é importante ficar atento ao tamanho da concha, pois, essa característica está diretamente relacionada com a idade do molusco e, consequentemente, com a quantidade de hemócitos circulantes. Para determinar a influência dos compostos analisados nos hemócitos da hemolinfa, pode-se utilizar a técnica de Ensaio Cometa que visa determinar a extensão dos danos ao núcleo celular e correlacioná-lo com genotoxicidade (de Siqueira et al., 2021).

A semelhança da hemolinfa com o sangue de vertebrados faz com que este modelo seja amplamente utilizado a fim de verificar efeitos adversos de diversas substâncias, incluindo pigmentos. Ademais, outros componentes da hemolinfa, como hemocianinas, possuem atividade da fenoxidase, sendo aplicadas em ações antibióticas e antivirais (Machalowski & Jesionowski, 2021). Dessa forma, o modelo utilizando *B. glabrata* se torna eficaz na avaliação da segurança de pigmentos naturais, além de evitar a utilização de mamíferos vertebrados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta tese estão apresentados na forma de artigos sendo um artigo experimental e outro de revisão.

4.1 artigo 1

Além da Cor: Biossíntese, Funções e Aplicações Biotecnológicas das Prodigininas – uma revisão

Silva, Amanda Maria da¹; Xavier, Arthur Travassos de Queiroz¹; Aguiar, Jaciana dos Santos; Lima-Gomes, Gláucia Manoella de Souza¹

¹Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências;

RESUMO

Prodigininas são uma ampla classe de pigmentos vermelhos alcalinos e hidrofóbicos caracterizados pela presença do anel tripirrólico em sua estrutura. Esses pigmentos já foram isolados de gêneros bacterianos como *Serratia* sp., *Streptomyces* sp. e *Actinomadura* sp. e exibem grande diversidade estrutural devido aos tipos e comprimentos de radicais ligados ao núcleo pirrol. Além de conferir cor aos mais diversos materiais, prodigininas também são conhecidas por suas atividades biológicas como antimicrobiana, antioxidante, antitumoral e biocida. O interesse da indústria por pigmentos naturais é crescente e a substituição destes aos pigmentos sintéticos é gradativa, modulada pela mudança de perfil do consumidor e dos efeitos indesejáveis atribuídos aos pigmentos sintéticos. A ação bioativa das prodigininas tem motivado pesquisadores devido a potencial aplicação em medicamentos anticancerígenos, drogas antimicrobianas e aditivos alimentares, por exemplo, estimulando a busca frequente por novas fontes produtoras destas moléculas, principalmente entre os micro-organismos. Neste artigo a diversidade estrutural, a biossíntese, os mecanismos de ação e as possíveis aplicações industriais das prodigininas são criticamente discutidas. Além de revisar o estado da arte das prodigininas, busca-se compilar recentes avanços e perspectivas futuras de suas aplicações em formulações como filmes inteligentes, bionanocompósitos e hidrogéis bioativos.

Palavras-chave: prodigininas; bioatividade; cor; filmes inteligentes; bionanocompósitos

Introdução

Os micro-organismos são excelentes fontes de compostos bioativos de interesse dos seres humanos. Diversos metabólitos secundários produzidos por micro-organismos têm sido empregados nas indústrias farmacêuticas e nutraceuticas, como antibióticos, antioxidantes, suplementos alimentares, entre outros. Dentre os metabólitos produzidos por micro-organismos, os pigmentos naturais têm despertado o interesse de pesquisadores por todo o mundo, mais

recentemente, devido às características colorantes e as propriedades bioativas observadas, como agente antioxidante, de toxicidade seletiva e antitumoral, podendo significar uma importante estratégia para o desenvolvimento de novos produtos (Rajendran, Somasundaram e Dufossé, 2023).

Moléculas estruturalmente diversas, os pigmentos bacterianos pertencem a diferentes classes incluindo quinonas, carotenoides, antocianinas, melaninas e prodigininas (Paillière-Jiménez, Stincone, & Brandelli, 2020; Rather et al., 2023). As prodigininas (PdGs) compõem um conjunto de pigmentos vermelhos, alcaloides, tripirrólicos e normalmente hidrofóbicos que podem ser obtidos de forma natural, produzidos por espécies de *Serratia* sp., actinobactérias e algumas bactérias marinhas (Barreto et al., 2023) ou quimicamente sintetizadas. Essa classe de pigmentos possui representantes como a estreptorrubina B, a prodigiosina, undecilprodigiosina, entre outras. A principal molécula dessa classe, a prodigiosina, apresenta atividades biológicas importantes como ação antioxidante, anticancerígena e antibiótica, além de possuir diversas aplicações nas indústrias alimentícia, farmacêutica e têxtil (Li et al., 2022; Amorim et al., 2022; Han et al., 2021; Metwally et al., 2021).

Embora a exploração de fontes naturais para obtenção de pigmentos não seja uma estratégia recente, o papel que estas moléculas podem desempenhar como componentes funcionais na indústria farmacêutica é ainda algo novo. Insetos, espécies vegetais, animais e alguns minérios constituíam as principais fontes de extração de pigmentos e corantes desde as primeiras civilizações (Rajendran, Somasundaram & Dufossé, 2023). Contudo, em 1856 William H. Perkin sintetizou o corante azul conhecido como "mauveína" iniciando a era dos corantes sintéticos e, desde então, a demanda por pigmentos sintéticos aumentou substancialmente, consolidando-se ao longo das décadas (Rather et al., 2023).

Contudo, os efeitos negativos associados aos pigmentos sintéticos e suas propriedades recalcitrantes, bioacumulação, toxicidade, efeitos mutagênicos, cancerígenos e seu impacto no ambiente, têm impulsionado a busca por pigmentos naturais, à medida que os consumidores demandam produtos "eco-friendly" e seguros para a saúde (Aman Mohammadi et al., 2022; Olas et al., 2021).

Plantas e micro-organismos, como fungos e bactérias, destacam-se na produção de pigmentos naturais por sua eficácia na acumulação de altas concentrações desses compostos nas membranas celulares e grânulos intracelulares citoplasmáticos, permitindo a extração e purificação para aplicação em processos industriais (Paul et al., 2020). Pigmentos produzidos por micro-organismos apresentam vantagens frente aos obtidos de fontes vegetais, como independência da sazonalidade e possibilidade de alteração dos parâmetros de crescimento e extração para otimização da produção, além de facilitar a elucidação dos mecanismos de biossíntese (Paillière-Jiménez, Stincone, & Brandelli, 2020).

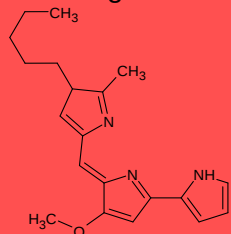
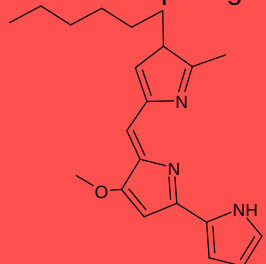
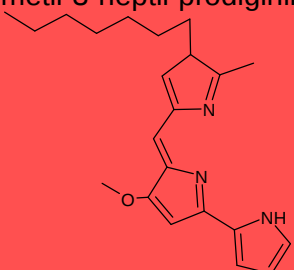
Esta revisão tem como objetivo apresentar as principais atividades biológicas associadas a prodigininas, descrevendo os processos de biossíntese, métodos predominantes de extração e identificação desses pigmentos. Pretende-se, assim, contribuir para o avanço das pesquisas no campo dos pigmentos microbianos.

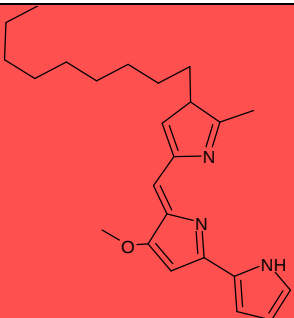
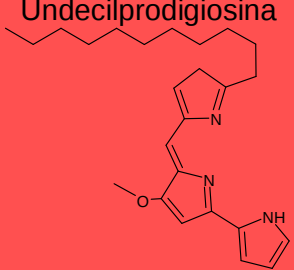
Classificação e estrutura química das prodigininas

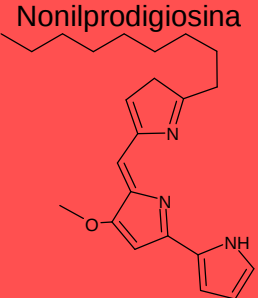
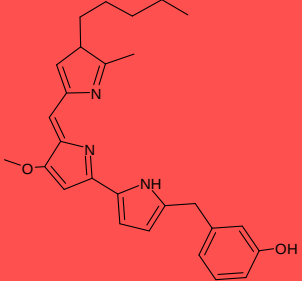
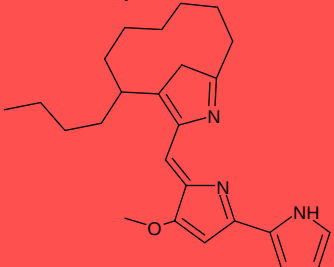
Prodigininas são um grupo de pigmentos vermelhos compostos por 33 membros caracterizados pela presença de um arranjo com três anéis pirróis (A, B e C). Sabe-se que as prodigininas apresentam propriedades de absorção no comprimento de onda aproximado de 535 nm. Do ponto de vista estrutural, as prodigininas podem ser classificadas em cíclicas e lineares (ou acíclicas), conforme a configuração dos anéis pirrólicos característicos, associados ao comprimento da cadeia alquil e a conformidade da molécula. Desde sua descoberta, com a prodigiosina em 1929, prodigininas já foram identificadas e isoladas a partir de diversos gêneros bacterianos como *Serratia* (Wang et al., 2022), *Hahella* (He et al., 2022), *Pseudoalteromonas* (Setiyono et al., 2020), *Vibrio* (Vijay et al., 2022), *Zooshikella* (Ramaprasad et al., 2015) e *Streptomyces coelicor* (Tencoli et al., 2020).

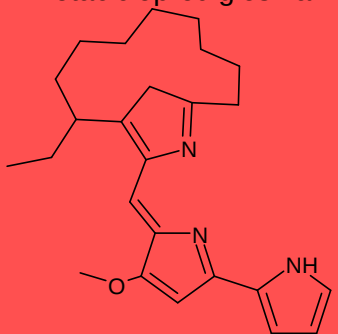
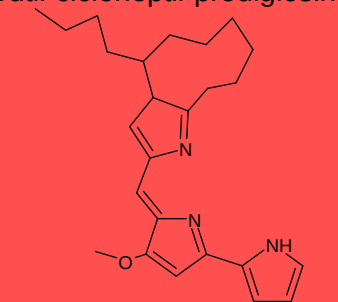
Prodigininas lineares se diferenciam pelo tamanho das cadeias carbônicas substituintes no anel C (Lu et al., 2024) enquanto prodigininas cíclicas podem apresentar um anel externo ligado ao anel C, como a metacicloprodigiosina e estreptorrubina B, ou a formação de um anel a partir da ligação entre os anéis A e C por cadeias de alquil, como a ciclononilprodigiosina e etilciclononilprodiginina (Li et al., 2022; Lu et al., 2024). Os pigmentos pertencentes à classe das prodigininas reconhecidos até o momento são brevemente descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Informações gerais e bioatividade de algumas das principais prodigininas cíclicas e lineares reportadas até o momento.

Linear prodiginines				
Pigmento	Micro-organismo	Informações gerais	Bioatividade	Referência
Prodigosina 	<i>Serratia marcescens</i> <i>Actinomadura rubra</i> <i>S. nematodiphila</i> <i>S. rubidaea</i>	Principal e primeira molécula da classe a ser descoberta. Por vezes é considerada um epônimo das prodigininas. Formada por um por pirrol (anel A), 3-metóxi-pirrol (anel B) e 2-metil-3-pentilpirrol (anel C) de fórmula molecular $C_{20}H_{25}N_3O$	Atividade anticancerígena contra células resistentes de carcinoma urotelial. Atividade antioxidante Atividade antimicrobiana	Guryanov et al., (2020); Koyun et al., (2022)
2-metil-3-butil prodiginina 	<i>Halella sp.</i> <i>P. rubra</i>	Isolada em pequenas quantidades a partir de uma bactéria marinha. Fórmula molecular $C_{19}H_{23}N_3O$	Forte atividade antimalária Strong antimalarial activity	Tan et al., (2023)
2-metil-3-hexil prodiginina 	<i>Pseudoalteromonas rubra</i>	Isolada em pequena quantidade a partir de uma bactéria marinha. Fórmula molecular $C_{21}H_{27}N_3O$.	Atividade antimicrobiana contra bactérias Gram negativas, Gram positivas e leveduras	Setiyono et al., (2020)
2-metil-3-heptil-prodiginina 	<i>Halella sp.</i> <i>P. rubra</i>	Derivado alcalino da prodigosina pouco relatado na literatura. Fórmula molecular $C_{22}H_{29}N_3O$	Atividade antimicrobiana contra bactérias Gram positivas e Gram negativas e leveduras, inclusive <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA.	He et al., (2022); Setiyono et al., (2020)
2-metil-3-nonil-prodiginina	<i>Zooshikella rubidus</i> <i>Epicoccum nigrum</i>	Uma das poucas (se não a única) prodigininas isoladas de um fungo	Atividade antimicrobiana contra bactérias Gram	Perveen et al., (2017)

		(ascomiceto).	positivas, Gram negativas e leveduras. Atividade antitumoral contra células SK-MEL-28 de melanoma humano.	Lee et al., (2015)
Isoheptilprodigiosina 	<i>Vibrio spartinae</i>	Primeira prodiginina ramificada relatada proveniente do cluster gênico <i>PIG</i> . Fórmula molecular C ₂₂ H ₃₀ N ₃ O	Atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas. Atividade antiparasitária contra <i>Plasmodium falciparum</i> verificada em molécula sintética.	Vitale et al., (2020) Kancharla et al., (2021)
Norprodigiosina 	<i>Hahella chejuensis</i> KCTC 2396	Formada pela condensação do 2-methyl-3-amyl-pyrrole (MAP) e 4-hydroxy-2,2'-bipyrrole-5-carboxaldehyde (HBC), a intermediate in 4-methoxy-2,2'-bipyrrole-5-carboxaldehyde (MBC) pathway.	Atividade citotóxica	Kim et al., (2007)
Undecilprodigiosina 	<i>Serratia sp.</i> <i>Hahella sp.</i> <i>Acinomadura sp.</i> <i>Streptomyces coelicolor</i>	Bastante relatada e estudada. Geralmente micro-organismos produtores de undecilprodigiosina não produzem prodigiosina e vice-versa. A biossíntese ocorre por meio da junção do 2-undecilpirrol (2-UP) com MBC.	Atividade fotossensibilizadora e coadjuvante em terapia fotodinâmica do cancer. Atividade antimicrobiana frente a diversos patógenos bacterianos e fúngicos. Utilizada como aditivo alimentar.	Sen, Barrow & Deshmukh (2019) Arshadi et al., (2021) Gacem et al., (2020)

Nonilprodigiosina 	<i>Actinomadura</i> sp.	Apresenta efeitos imunossupressores com atividade inibitória de linfócitos. Foi primeiramente obtida de uma cepa patogênica de <i>Actinomadura madurae</i> e difere da undecilprodigiosina no comprimento da cadeia de metileno.	Atividade citotóxica e antitumoral frente à melanoma (células 501-Mel e WM293A)	Branco et al., (2020) Pattnaik et al., (2022)
2-(<i>p</i>-hidroxibenzil) prodigiosina 	<i>Pseudoalteromonas rubra</i>	Primeira prodiginina natural relatada constituída de um substituinte (<i>p</i> -hidroxibenzil) na posição 2 do Anel A. Fórmula molecular C ₂₇ H ₃₂ N ₃ O ₂	Atividade antitumoral contra adenocarcinoma ovariano (células SKOV-3) Ampla atividade antimicrobiana contra <i>Escherichia coli</i> e <i>S. aureus</i> MRSA	Fehér et al., (2008) Kacharla et al., (2021)
Prodigininas cíclicas				
Pigmento	Micro-organismo	Informações gerais	Bioatividade	Referência
Cicloprodigiosina 	<i>Streptomyces</i> sp. <i>Serratia</i> sp.	Bactérias marinhas são as mais proeminentes fontes de extração e isolamento. Reportada pela primeira vez em 1979. Demonstra maiores efeitos antimicrobianos em bactérias Gram positivas.	Atividade antimicrobiana Atividade anti-inflamatório e anti-tumoral	Setiyono et al., (2020)
Estreptorrubina B 	<i>S. spectabilis</i> <i>Streptomyces</i> sp.	Por alguns anos, logo após sua descoberta, recebeu o nome de butilcicloheptilprodigiosin. Estudos posteriores demonstraram que se tratava de moléculas diferentes. Apresenta efeitos anti-nematóides, inibidores de biofilme em <i>Staphylococcus aureus</i> e eficácia contra determinadas linhagens de células cancerígenas	Atividade anti-biofilme Atividade nematocida	Suzuki et al., (2015) Yi et al., (2022)

Metacicloprodigosina 	<i>Actinobacterium V₀₀₂</i>	A atividade óptica da molécula indica a participação de um complexo enzimático em sua formação. Anos depois de sua descoberta, a participação da enzima RedG em sua biossíntese foi elucidada.	Atividade antioxidante Atividade antibacteriana.	Gacem et al., (2020)
Butil-cicloheptil-prodigiosina 	<i>Serratia marcescens</i>	Por alguns anos foi confundida com estreptorubina B. Apresenta uma ampla gama de características bioativas.	Radiossensibilizadores e radioprotetores. Agente citotóxico e genotóxico. Antioxidante e Anti-inflamatório	Arshadi et al., (2021) Abdelfattah et al., (2019)
Ciclononilprodiginina 	<i>Pseudoalteromonas</i> sp. (BRA-007)	Estudos demonstram efeitos citoestáticos e indutores de apoptose e danos ao DNA além de inibir a survivin.	Anti-cancerígena contra melanoma (células SK-Mel).	Branco et al., (2020)

Prodigininas lineares (acíclicas)

A prodigiosina é a molécula mais investigada dentre as prodigininas que se tem conhecimento e, por vezes, é considerada um epônimo das prodigininas. Isolada pela primeira vez em 1929 por Wrede e Hettche a partir de *Serratia marcescens* (até então denominado *Bacillus prodigiosus*) (Wrede e Hattche, 1929), a prodigiosina teve sua estrutura química elucidada em 1962 por Rapoport e Wilson. Molécula tripirrólica formada por pirrol (anel A), 3-metóxi-pirrol (anel B) e 2-metil-3-pentilpirrol (anel C) de fórmula molecular $C_{20}H_{25}N_3O$ (Han et al., 2021) a prodigiosina tem sido relacionada a diversas atividades biológicas tais como antimicrobianas (Setiyono et al., 2020), antioxidantes, anti-inflamatórias (Abdelnour et al., 2020), antitumorais (Wang et al., 2022) e antiparasitárias (Herráez et al., 2021). Em *Serratia marcescens*, a prodigiosina é sintetizada por meio de 33 genes, enquanto *Streptomyces coelicolor* utiliza 23 genes para produzir seus derivados (Ramesh et al., 2021). Contudo a produção de prodigiosina tem sido reportada por outras espécies de *Serratia*, como *S. nematodiphila* e *S. rubidaea* como, também, por outros gêneros bacterianos (p. ex. *Pseudoalteromonas*, *Vibrio* e *Streptomyces*) (Han et al., 2021).

Os compostos 2-metil-3-propil prodiginina, 2-metil-3-butil prodiginina, 2-metil-3-hexil prodiginina e 2-metil-3-heptil-prodiginina, 2-metil-3-octil-prodiginina são pouco reportados na literatura, sendo geralmente identificados em pequenas concentrações junto a outros pigmentos da classe das prodigininas (Setiyono et al., 2022; He et al., 2022; Shaffer et al., 2023) sendo 2-metil-3-propil-prodiginina, 2-metil-3-butil-prodiginina e 2-metil-3-heptil-prodiginina relacionados a efeitos antimicrobianos frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) e *Bacillus subtilis* (He et al., 2022).

Segundo dados da literatura, o pigmento 2-metil-3-nonil-prodiginina apresenta efeitos antimicrobianos contra *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus* e *Candida albicans* (Perveen et al., 2017) sendo produzido e isolado de bactérias (*Zooshikella rubidus*) e fungos (*Epicoccum nigrum*) (Lee et al., 2011; Perveen et al., 2017).

Ramaprasad e colaboradores (2015) relataram a extração de pequenas quantidades dos pigmentos 2-metil-3-dodecil-prodiginina (422 m/z) e 2-metil-3-tridecil-prodiginina (436 m/z) a partir de *Zooshikella marina*, bactéria pigmentada isolada da areia da praia. Os autores, entretanto, não apresentam detalhes acerca das atividades biológicas dos pigmentos, denominando-os apenas com análogos da prodigiosina.

A isoheptilprodigiosina, por sua vez, foi primeiramente relatada por Vitale e colaboradores (2020) como produto metabólico da bactéria Gram negativa *Vibrio spartinae*, sendo a primeira prodigiosina ramificada advinda do gene *PIG*. Desde sua descoberta, a isoheptilprodigiosina já demonstrou efeitos antimicrobianos frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas (Vitale et al., 2020) e antimalárico contra *Plasmodium falciparum* (Tan & Wang, 2023; Kancharla et al., 2021).

Norprodigiosina, undecilprodigiosina, metacicloprodigiosina e nonilprodigiosina apresentam estereoisômeros com atividades biológicas semelhantes, incluindo citotóxica (Kim et al., 2007; Branco et al., 2020), antioxidante e antibacteriana (Sen, Barrow & Deshmukh). A norprodigiosina foi previamente reportada por Quadri e Williams em 1973 e Gerber em 1975 como produto metabólico de *Serratia marcescens*, sendo formada pela condensação do 2-metil-3-pentilpirrol (MAP) com HBC (4-hidroxi-2,2'-bipirrol-5-carboxaldeído),

molécula intermediária do MBC (4-metoxi-2,2'-bipirrol-5-carboxaldeído) (Gerber, 1975; Kim et al., 2007).

A undecilprodigiosina foi identificada em 1966, isolada de *Streptomyces longisporus ruber* (Wasserman, Rodgers e Keith, 1966). Desde então outros gêneros como *Serratia*, *Hahella*, *Actinomadura* e *S. coelicor* já foram investigados como produtores (Li et al., 2022). De modo geral, conforme dados da literatura, micro-organismos produtores de undecilprodigiosina não demonstram acumular prodigiosina e vice-versa (Paul et al., 2020). A biossíntese deste pigmento ocorre com a junção de 2-undecilpirrol (2-UP) com o MBC (Wasserman et al., 1974; Hu et al., 2016). Algumas enzimas como a McpG e a RedG podem modificar a molécula dando origem à formação da metacicloprodigiosina ou até mesmo da estreptorrubina B (Li et al., 2022).

A undecilprodigiosina apresenta atividades biológicas e industriais sendo reportada em estudos de terapia fotodinâmica (Arshadi et al., 2021) como agente capaz de sensibilizar células cancerígenas à exposição da luz, acarretando, assim, a morte celular; como fator anti-melanogênico (Lee et al., 2024), reduzindo a produção de melanina na pele em casos de hiperpigmentação; agente antitumoral, antimicrobiano e antifúngico (Alzahrani et al., 2022).

A nonilprodigiosina, extraída e caracterizada em 1969 a partir de uma cepa patogênica de *Actinomadura (Streptomyces) madurae* (Gerber, 1969), difere da undecilprodigiosina na quantidade de radicais metileno ao longo da cadeia carbônica (Hu et al., 2016). A nonilprodigiosina exibe efeitos imunossupressores, como a capacidade de inibir a atividade linfocitária (Montaner e Pérez-Tomás, 2003) e junto ao seu análogo nonilprodigiosina macrocíclica tem demonstrado em estudos recentes efeitos citotóxicos em células tumorais com especial afinidade por melanomas (Branco et al., 2020; Pattnaik et al., 2022).

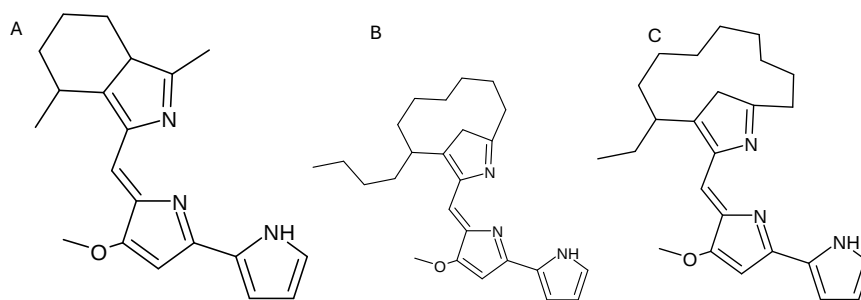
A 11-metildodecil-prodiginina (Kimata et al., 2018), metilundecilprodiginina (Mo et al., 2013), 2-metil-3-propil-4-O-metil-prodiginina, 2-metil-3-pentil-4-O-metil-prodiginina (He et al., 2022) e dipirrolildipirrometeno prodigiosina (Kim et al., 2007) possuem poucos relatos na literatura e suas atividades biológicas permanecem desconhecidas. A 11-metildodecil-prodiginina corresponde a uma prodiginina natural de cadeia ramificada, assim como isoheptilprodiginina e metilundecilprodiginina (Kimata et al., 2018).

As moléculas de 2-(p-hidroxibenzil) prodigiosina, 4''-(n-butil)-2-(p-hidroxibenzil)prodigiosina, 4''-(n-hexil)-2-(p-hidroxibenzil)prodigiosina e 4''-(n-heptil)-2-(p-hidroxibenzil)prodigiosina, por sua vez, foram relatadas por Fehér e colaboradores (2008) como metabólitos secundários de *Pseudoalteromonas rubra*, apresentando ação citotóxica contra células SKOV-3, linhagem celular de adenocarcinoma ovariano humano. A molécula de 2-(p-hidroxibenzil) prodigiosina é considerada um análogo da prodigiosina com um substituinte no Carbono 2 (C-2) do anel A (Hu et al., 2016).

Prodigininas cíclicas

A estreptorrubina B, metacicloprodigiosina e a cicloprodigiosina (**Figura 1**) podem ser citadas como moléculas de destaque nesse grupo.

Figura 1. Estrutura química das moléculas de cicloprodigiosina (A), estreptorrubina B (B) e metacicloprodigiosina (C).



Fonte: a autora

As prodigininas cíclicas compreendem algumas das estruturas mais conhecidas na literatura como a metacicloprodigosina e a cicloprodigosina. Descrevemos as prodigininas cíclicas a seguir.

Meta-cicloprodigosina e propil-meta-ciclo-octil prodigosina já foram reportados como produtos do metabolismo de *Streptomyces coelicolor* M511 (Kimata et al., 2017), sendo a propil-meta-ciclo-octil prodigosina relatada pelos autores como um novo composto.

A estreptorrubina B corresponde a uma prodiginina cíclica derivada da undecilprodigosina obtida a partir da condensação de 2-undecilpirrol (UP) e 4-metoxi-2,2'-bipirrol-5-carboxaldeído (MBC) pelo complexo enzimático RedH (Withall et al., 2015). Isolada em 1975 a partir de *Streptomyces* sp. Y-42, a estreptorrubina B foi primeiramente classificada como butilcicloheptilprodigosina, um derivado insaturado da undecilprodigosina (Gerber, 1975). Entretanto, a estrutura teve sua classificação revisada em 1976 por Gerber e Lechevalier. Ao comparar as características e propriedades da butilcicloheptilprodigosina e da estreptorrubina B identificando similaridades, a butilcicloheptilprodigosina foi reclassificada como estreptorrubina B (Hu et al., 2016).

Durante os anos subsequentes, diversos estudos para elucidação de sua biossíntese e estrutura química foram realizados e apontam que a estreptorrubina B, bem com a metacicloprodigosina, são derivados cíclicos da undecilprodigosina (Haynes et al., 2011). A biossíntese da molécula envolve, assim como em outras prodigininas, a regulação por parte do “red” cluster ou agrupamento de genes envolvidos na síntese de pigmentos vermelhos, como prodigosina e seus derivados. Em *Streptomyces coelicolor*, por exemplo, a molécula 2-undecilpirrol (UP) é fundamental para a síntese de estreptorrubina B e undecilprodigosina que envolve o cluster *redPQRKL*, onde o gene RedL e RedK auxiliam na síntese de UP a partir do ácido dodecanóico (Mo et al., 2008).

Segundo dados da literatura, a estreptorrubina B demonstra efeitos anti-nematoides (Yi et al., 2022), inibidores de biofilme em *Staphylococcus aureus* (Suzuki et al., 2015) e eficácia frente a algumas linhagens de células cancerígenas (Xiao et al., 2016). A butil-cicloheptil-prodigosina, por sua vez, já foi reportada como metabólito secundário de *Streptomyces coelicolor*, *Saccharopolyspora* sp. e *Serratia marcescens* (Islan et al., 2022; Arshadi et al., 2021).

Desde sua descoberta, como metabólito secundário de *Streptomyces longisporus ruber* (*S. longispororuber*) por Wasserman e colaboradores em 1969, a metacicloprodigosina (mcPG) tem sido obtida a partir de diversas espécies de *Streptomyces*, tais como *S. alboblavus* (Masi et al., 2024), *S. coelicolor*, *S. spectabilis* (Meng-Xi et al., 2021). O pigmento apresenta propriedades antimicrobianas (Meng-Xi et al., 2021), antioxidantes (Gacem et

al., 2020) e antitumorais (Ikeda et al., 2016).

A cicloprodigiosina (cPG), diferentemente de outros análogos de prodigiosina que são comumente isolados de espécies dos gêneros *Streptomyces* e *Serratia*, foi primeiramente isolada a partir de *Alteromonas* (*Pseudoalteromonas*) *rubra* (Gerber e Gauthier, 1979), sendo reportada nos anos seguintes, de outras bactérias como *Vibrio gazogenes* (Alihosseini et al., 2010), *Massilia frigida* (Shaffer et al., 2023) e *Zooshikella rubidus* (Lee et al., 2011). Bactérias marinhas, aparentemente, apresentam maiores índices de produção da cPG quando comparadas com procariontes de outros habitats (Hu et al., 2016). Esse pigmento demonstrou atividade antimicrobiana (Setiyono et al., 2020), anti-inflamatórias e anti-proliferativas (D'Orazio et al., 2012).

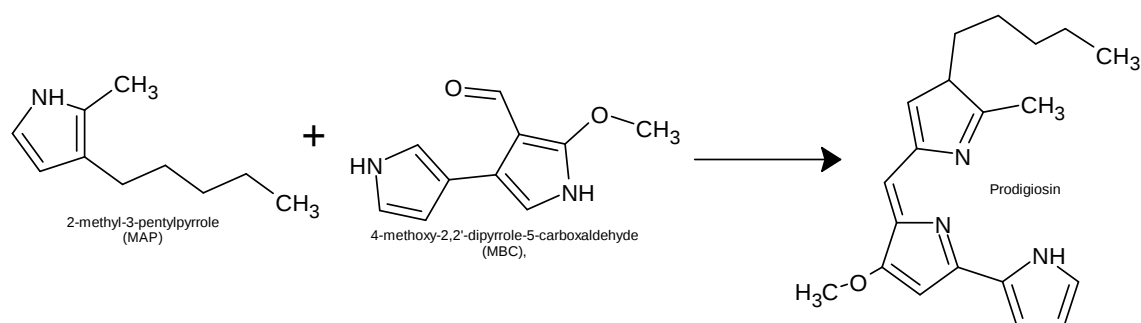
As prodigiosinas R1, R2 e R3 são análogos da prodigiosina reportados mais recentemente na literatura sendo isoladas da bactéria produtora de roseofilina *S. griseoviridis* (Kawasaki et al., 2008; Kimata et al., 2018; Kimata et al., 2023). A R2 e R3 apresentam propriedades citotóxicas e anticancerígenas, enquanto a R1 não teve suas propriedades elucidadas (Kimata et al., 2023; Kimata 2018).

Alguns pigmentos cíclicos são reconhecidos por sua elevada citotoxicidade como o pigmento ciclononilprodigiosina e metilciclooctilprodiginina extraídos a partir de micro-organismos como *Actinomadura* sp. sendo considerados assinatura química deste micro-organismo (Silva et al., 2017). A ciclononilprodigiosina também apresenta atividade antiproliferativa contra células tumorais e não tumorais, em especial contra melanomas (Branco et al., 2020).

Biossíntese das prodigininas

Apesar de grande número de bactérias actinobactérias ser capaz de produzir diversos certa diversidade de compostos pigmentados, apenas um número limitado consegue produzir prodigininas, o que instiga a investigação do conjunto gênico por trás da biossíntese desses compostos (Ramesh et al., 2021). O processo de formação das prodigininas é complexo e começou a ser elucidado a partir da formação da prodigiosina em *Serratia* (Williams, 1973). Nesse processo, a prodigiosina é sintetizada (**Figura 2**) a partir da ligação entre 2-metil-3-pentilpirrol (MAP) e 4-metoxi-2,2'-dipirrol-5-carboxialdeído (MBC), sendo o primeiro estágio a formação do MAP e do MBC (Li et al., 2022). Estes precursores são derivados de aminoácidos e acetatos. O MAP tem como precursor o 2-octenal obtido por meio de transformações de ácidos graxos, enquanto o MBC é biossintetizado a partir da conversão da prolina em pirrol, seguida da formação do álcool primário 4'-hidroxi-2,2'-bipirrol-5-metanol que, por sua vez, é oxidado e metilado (Mnif et al., 2022).

Figura 2. Esquema da síntese de prodigiosina (C) a partir do MAP (2-metil-3-pentilpirrol) (B) e do MBC (4-metoxi-2,2'-dipirrol-5-carboxialdeído) (A)



Fonte: a autora

Pequenas modificações nessa rota podem acarretar a formação das mais diversas prodigininas. A cicloprodiginosina em *Pseudoalteromonas rubra*, por exemplo, pode ser sintetizada a partir da modificação da prodiginosina pela enzima PRUB680 monooxigenase alquilglicerol (de Rond, 2017). Em *Streptomyces coelicolor* a condensação das moléculas 2-undecilpirrol e MBC levam à formação de undecilprodiginosina, sendo a 2-undecilpirrol produto da ação da malonil e acetil coenzima A (Wasserman et al., 1974). Em outra rota metabólica existe, ainda, a possibilidade da undecilprodiginosina originar uma molécula de estreptorrubina B por meio do processo de carbociclicização oxidativa catalisado pela enzima Rieske oxigenase RedG (Withall, Haynes e Challis, 2015).

A genômica e metabolômica tem contribuído para a elucidação dos genes envolvidos na biossíntese das prodigininas. Estudos recentes demonstram que cerca de 15 genes estão relacionados a este processo em espécies como *Vibrio spartini* (Vitale et al., 2020). Porém em espécies de *Streptomyces* sp. esse processo é mais complexo e pode envolver outros clusters. Os principais “clusters” relacionados à síntese de prodigininas são o *red* (em *Streptomyces* sp.) e o *pig* (em *Serratia* sp.), sendo cada um composto por um grupo de genes específicos. O cluster *pig*, por exemplo, é comumente relacionado à síntese da prodiginosina e compreende 14 genes organizados em ordem de A-N com tamanho aproximado de 20960 bp (Mnif et al., 2022). A diversidade da biossíntese da prodiginosina e seus derivados nos diversos grupos de micro-organismos e suas funcionalidades evidencia a necessidade cada vez mais de pesquisas na área de isolamento e extração de biopigmentos.

Otimização da produção de prodigininas

Algumas prodigininas podem ser quimicamente sintetizadas. Entretanto, a síntese química além de apresentar um alto custo, possui muitas etapas e, frequentemente, demonstra baixa rentabilidade (Han et al., 2021). Nesse contexto, a extração a partir de fontes naturais, como os micro-organismos, se apresenta como alternativa de baixo custo, eco-friendly e com grande possibilidade de otimização para utilização industrial.

De maneira geral, procariotos marinhos demonstram habilidade superior na produção de prodigininas em comparação às bactérias que habitam o solo. Além disso, a variedade estrutural e a extensa presença desses organismos no ambiente sugerem uma significativa diversidade na biossíntese desses compostos (Li et al., 2022). A biossíntese da prodiginosina, por exemplo, pode resultar em alguns de seus derivados (undecilprodiginosina p. ex.) a depender das condições de cultivo e da presença de determinados genes produtores (Paul et al., 2020).

Na produção de pigmentos a partir de bactérias, o meio de cultivo é parte essencial, impactando significativamente o rendimento e o custo do processo (Rajendran, Somasundaram & Dufossé, 2023). Além disso, a adição de matérias primas (como ácidos graxos e aminoácidos) que proporcionem uma melhor síntese de MAP e MBC podem atingir resultados satisfatórios na produção de PdGs. Nesse contexto, a utilização de rejeitos agroindustriais e materiais alternativos na elaboração dos meios de cultura é crescente e auxilia o esforço de atingir o desperdício zero além de contribuir para a economia circular, reduzindo a carga ambiental e sintetizando produtos com alto valor agregado (Usmani et al., 2020; Paillière-Jiménez, Stincone e Brandelli, 2020). Em estudo desenvolvido por Alzahrani e colaboradores (2020) a produção de undecilprodiginosina por *Streptomyces* sp. foi otimizada (181,78 mg/g de esporos desidratados) utilizando resíduos de óleo de amendoim combinado com rejeitos de laticínios e frutas no meio de cultura. Da mesma forma, a utilização de pó de farelo de trigo e a suplementação com tirosina aumentou a produção de prodiginosina (0,125 g/L) por *S. marcescens* e *S. nematodiphilia* (Maurya et al., 2024).

Além do meio de cultivo, fatores como pH, temperatura e o nível de oxigênio dissolvido também podem afetar a produção de prodigininas. Condições anaeróbicas podem inibir a formação de MBC e a condensação de MBC e MAP, dificultando a síntese do pigmento em *Serratia marcescens* (Han et al., 2021). Dessa forma, bactérias cultivadas em meios aerados costumam produzir prodiginosina de maneira mais eficiente, sendo a disponibilidade de oxigênio fator crítico para a produção de metabólitos secundários. Contudo taxas de aeração em níveis extremos, para mais ou para menos, podem influenciar negativamente na produção de prodigininas (Lu et al., 2024).

Durante o cultivo sob agitação o oxigênio é comumente limitado devido à baixa solubilidade na água entre 20 °C e 40 °C (Pereira e De Carvalho, 2024). Em pesquisa realizada por Pereira e De Carvalho (2024), a otimização da produção de prodiginosina a partir de *Serratia rubidaea*, foi alcançada utilizando a proporção de 80% de espaço livre para o crescimento microbiano, demonstrando a influência da aeração na biossíntese do pigmento.

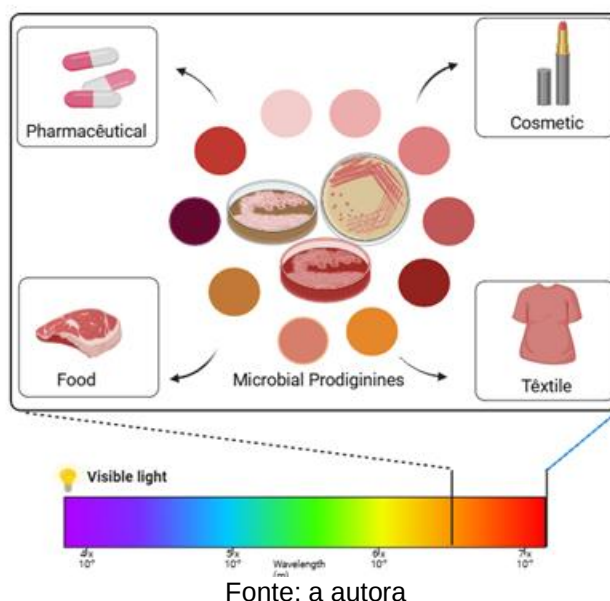
A temperatura e o pH também são fatores determinantes na regulação das proteínas envolvidas na biossíntese de pigmentos por micro-organismos. Altas temperaturas dificultam a produção de pigmentos ao interferir na condensação enzimática da PigC que, por sua vez, é primordial para a ligação entre o MAP e o MBC. A enzima PigC desnatura em temperaturas acima de 30 °C e tem sua atividade diminuída abaixo de 22 °C (Han et al., 2021). Do mesmo modo, valores extremos de pH também influenciam negativamente a produção de prodigininas. Dessa forma a temperatura ótima para crescimento fica entre 20 °C e 30 °C e o pH próximo do neutro.

Aplicações industriais das prodigininas

Devido às funcionalidades exibidas pelas prodigininas, muitas delas são utilizadas nas indústrias farmacêutica, nutracêutica e têxtil (Figura 3) (Habash et al., 2020). Diversos fatores podem influenciar na obtenção e na estabilidade dos pigmentos naturais como pH, temperatura, luminosidade e radiação UV influenciando sua aplicação industrial. Propriedades como a hidrofobicidade apresentada pelas prodigininas demandam a adoção de estratégias para sua utilização. Nesse sentido, técnicas como microencapsulação e nanoformulações

podem ser utilizadas a fim de aumentar a estabilidade do pigmento e contribuir para aumentar a sua dispersão (Rather et al., 2023).

Figura 3. Principais aplicações industriais e biotecnológicas das prodigininas



Fonte: a autora

Na indústria alimentícia a prodigiosina pode ser utilizada em alimentos para incrementar a cor ou até mesmo desempenhar papel bactericida atuando, dessa forma, na conservação e preservação do alimento durante o processamento (Han et al., 2021). Em breve revisão da literatura sobre conservantes em salsichas, uma das carnes processadas mais consumidas em todo o mundo, Choe (2022) demonstra a importância da utilização de pigmentos microbianos vermelhos, incluindo a prodigiosina, em substituição ao nitrito de sódio que, apesar de apresentar propriedades antimicrobianas e auxiliar na fixação da cor e do sabor, é classificado no grupo 1 de substâncias carcinogênicas. A salsicha, por conta do alto teor de gordura, pode sofrer oxidação lipídica, alterando a textura, cor, sabor e odor, além de ocasionar a produção de compostos nocivos como peróxidos e aldeídos. Nesse contexto, a utilização de conservantes é fundamental para garantir a segurança da produção e do consumo (Choe, 2022).

Além disso os pigmentos naturais podem ser utilizados para o desenvolvimento de embalagens ativas. As embalagens ativas utilizadas em alimentos podem fornecer proteção contra processos oxidativos, aumentar o tempo de prateleira e retardar a deterioração dos alimentos. Essa tecnologia é desenvolvida a partir de polímeros adicionados de compostos ativos, como sequestradores de oxigênio e etileno, antimicrobianos, captadores de umidade e antioxidantes (Gaikwad, Singh & Negi, 2020; Kumar et al., 2021). No caso das embalagens ativas antioxidantes, estas podem atuar de duas maneiras: liberando antioxidantes nos alimentos e/ou eliminando compostos prejudiciais que possam vir a surgir em determinado estágio do processo oxidativo (Jamroz & Kopel, 2021).

Para além da utilização em produtos destinados à alimentação humana, pesquisas também apontam a utilização e os benefícios de prodigininas como aditivos na ração animal. No contexto da produção pecuária, o estresse térmico pode aumentar a temperatura corporal, provocando o surgimento de radicais

livres que, por sua vez, induzem danos às proteínas e ao DNA, além de aumentar os níveis de citocinas pró-inflamatórias, influenciando negativamente a produção e a saúde dos animais (Sheiha et al., 2020; Hirakawa et al., 2020). Nesse sentido, buscando alternativas para amenizar os efeitos do estresse térmico, estudo desenvolvido por Abdelnour e colaboradores (2020) demonstrou redução dos níveis de citocinas inflamatórias, melhor crescimento e estado geral de saúde em coelhos alimentados com ração incrementada por prodigiosina. Em comparação com o grupo controle, a administração de 50, 100 e 150 mg/kg de prodigiosina diminuiu significativamente os níveis de bilirrubina total, triglicerídeos, gama-glutamyl transferase e creatinina, além de melhorar o peso corporal final, o ganho diário de peso e a taxa de conversão alimentar (Abdelnour et al., 2020).

Além da aplicação na indústria alimentícia, a capacidade das prodigininas de interagir com diferentes fibras sintéticas e naturais como algodão, lã, seda e náilon podem ser aproveitados, também, na indústria têxtil (Ren et al., 2017). Moléculas como cicloprodigiosina e heptilprodigiosina apresentaram capacidade colorante em lã, seda e acrílico, demonstrando características similares aos dos corantes iônicos (Alihosseini et al., 2008). Juntamente com a violaceína e melanina, extratos bacterianos com prodigiosina são corriqueiramente utilizados em processos de tingimento, sendo a prodigiosina conhecida pelas suas propriedades antioxidantes, antibacterianas e de proteção contra radiação ultravioleta (UV) (Kramar e Kostic, 2022). Dependendo do pH e do processo utilizado no tingimento, esses compostos são capazes de produzir interações iônicas com as fibras têxteis (Kramar et al., 2014). A prodigiosina pode se unir às fibras do tecido e, por conseguinte, pode ser utilizada como corante têxtil. Além disso, tecidos tingidos com prodigiosina mantêm a cor mais tempo e são resistentes à sucessivas lavagens, como também à ácidos, substâncias alcalinas e saponificantes (Han et al., 2021). Prodiginina extraída de *S. marcescens* tem a capacidade de tingir fibras sintéticas (nylon) que, por sua vez, apresentaram alta resistência às lavagens e propriedades antimicrobianas frente a *Escherichia coli* e *S. aureus* (Liu et al., 2013). O estudo citado apontou, ainda, diferença na ação antimicrobiana entre tecidos naturais e sintéticos, sendo os últimos mais efetivos (Liu et al., 2013).

As propriedades bioativas das prodigininas também são utilizadas na indústria de cosméticos, principalmente em produtos de cuidados com a pele (“skincare”) (Kiki, 2023). O mercado global de cosméticos naturais é crescente e, estima-se, atingir US\$ 54,5 bilhões em 2027 (Thiyagarasaiyar et al., 2020). Diversos pigmentos possuem propriedades que são consideradas vantajosas na indústria de cosméticos como, por exemplo, a presença de compostos antioxidantes e proteção contra radiação ultravioleta (UV). A pele, maior órgão do corpo humano, protege o organismo e está constantemente exposta à químicos e à radiação ultravioleta (UV), que pode desencadear o processo de envelhecimento precoce, além da perda da ação antioxidante (Resende et al., 2021). Diante desse contexto, pigmentos que apresentam ação antioxidante e antibacteriana como undecilprodigiosina e metacicloprodigiosina, por exemplo, e tenham a capacidade de reter umidade, são preferencialmente utilizados na formulação de cremes hidratantes e de proteção solar, por exemplo.

Atividades biológicas das prodigininas

Atividade antioxidante

Compostos da família das prodigininas demonstraram efeitos antioxidantes, sendo capazes de neutralizar espécies reativas de oxigênio (ERO) e radicais livres, diminuindo o estresse oxidativo. Por conta dessa propriedade, é comum a pesquisa de prodigininas como aditivo alimentar ou até mesmo na constituição de cremes para proteção solar e outros cosméticos (Kiki, 2023). Acredita-se que o potencial antioxidante demonstrado pela prodigiosina, por exemplo, pode ser reflexo das ligações duplas conjugadas da molécula e das estruturas do anel pirrol (Ibrahim et al., 2023).

Algumas doenças podem gerar efeitos oxidativos e nesse contexto as prodigininas também podem ser úteis. Nesse sentido, a prodigiosina demonstrou efeitos protetivos contra células SH-SY5Y de neuro blastoma humano, ativando enzimas antioxidantes e amenizando o estresse oxidativo (Koyun et al., 2022). A redução de EROs por componentes com ação antioxidante contribuem no equilíbrio do sistema imune protegendo células e reduzindo a chance de doenças como câncer, distúrbios hormonais e gastrointestinais (Araújo et al., 2022).

Potenciais efeitos antioxidantes têm sido reportados em pesquisas com prodigininas isoladas ou de extratos brutos. Extrato composto de undecilprodigiosina e metacicloprodigiosina obtido de *Streptomyces* sp. (designada V₀₀₂) isolada de solo florestal em região semiárida da Argélia demonstrou redução de 70 a 90% do radical ABTS e de 7% a 25% do radical DPPH com 25 a 100 µL e 50 a 100 µL respectivamente (Gacem et al., 2020).

Certas prodigininas podem ser utilizadas como composto bioativo em bionanocompósitos poliméricos, como é o caso da prodigiosina. Por conta das suas mais variadas aplicações na indústria médica e farmacêutica, pesquisas apontam sua utilização, assim como a cicloprodigiosina e undecilprodigiosina, na confecção de bionanocompósitos com atuação antioxidante (Araújo et al., 2022).

Atividade antiparasitária

Doenças parasitárias são, normalmente, negligenciadas, em todo o mundo, mesmo afetando milhões de pessoas. Doenças como Chagas e malária, causadas pelos parasitas *Trypanossoma cruzi* e *Plasmodium* sp., respectivamente, são grandes desafios de saúde pública em muitos países, principalmente nos países subdesenvolvidos de áreas tropicais, subtropicais e temperadas. Nesse sentido, a busca por compostos com atividade antiparasitária é emergente.

Pesquisas apontam a efetividade das prodigininas como agentes biocidas, principalmente contra vermes e protozoários. Prodigiosina extraída e purificada de *Serratia marcescens* demonstrou boa atividade biocida contra formas epimastigotas e tripomastigotas/amastigotas de *Trypanossoma cruzi*, apresentando IC₅₀ de 0,54 µM e 0,1 µM, respectivamente, superando o efeito do benznidazol, droga medicamentosa utilizada como referência (Herráez et al., 2021). Nesse caso, a prodigiosina interferiu na txa respiratória do protozoário, afetando o metabolismo mitocondrial e ocasionado sua morte (Herráez et al., 2021).

Em relação à ação biocida contra vermes, um estudo pesquisou a eficácia da prodigiosina e outros derivados contra nematódeos e fungos comumente parasitas de espécies vegetais. O estudo conduzido por Habash e colaboradores (2020) utilizou como modelo *Caenorhabditis elegans*, amplamente utilizado em

ensaios *in vitro* e *Heterodera schachtii*, conhecido parasita vegetal e causador de muitos prejuízos a diversas culturas. Frente a *C. elegans* uma concentração de 0,127 μM de prodigiosina foi suficiente para matar 50% dos juvenis, enquanto outros derivados apresentaram menor eficácia (Habash et al., 2020).

A ação das prodigininas contra protozoários do gênero *Plasmodium* também já foi investigada. Espécies de *Plasmodium*, principalmente *P. vivax* e *P. falciparum*, são as principais causadoras da malária, doença parasitária grave que tem como principal vetor mosquitos hematófagos do gênero *Anopheles*. Nesse contexto, estudos já demonstraram efeitos da prodigiosina, cicloprodigiosina, undecilprodigiosina, estreptorrubina B, metacicloprodigiosina, entre outras contra protozoários do gênero *Plasmodium* (Li et al., 2022). Kancharla e colaboradores (2021) demonstraram forte ação inibitória da isoheptilprodigiosina e 4"-butilprodigiosina em *P. falciparum* com 100% de eliminação do parasita após o 5 dia com a concentração de 25 mg/kg evidenciado a possibilidade da utilização desses pigmentos como drogas antiparasitárias. Do mesmo modo, a estreptorrubina B apresentou forte atividade antimalárica frente a *P. falciparum* com IC_{50} na concentração de 7,8 nM (Kancharla et al., 2011). Prodigiosina e análogos sintéticos das prodigininas também se mostraram efetivos contra parasitas. Em estudo desenvolvido por Ehrenkauf e colaboradores (2020), o análogo sintético da estreptorrubina B, obatoclax e a prodigiosina demonstraram efeitos antiparasitários e EC_{50} frente a *Entamoeba sp.* (0,5 mM e 0,7 mM), *Schistosoma sp.* (0,6 mM e 1 mM) e *Trypanosoma brucei* (0,04 mM e 0,03 mM), respectivamente, demonstrando maior efetividade que o praziquantel.

Outra possível utilidade das prodigininas reside no combate aos vetores de algumas doenças. Nesse particular é possível observar efeitos larvicidas contra larvas dos mosquitos *Aedes sp.* e *Anopheles sp.* Nesse particular, a prodigiosina demonstrou alta taxa de letalidade frente a larvas de estágio II de *A. aegypti* e de *Anopheles stephensi* com concentrações de LC_{50} de $14 \pm 1,2 \mu\text{g/mL}$ e $19,7 \pm 1,12 \mu\text{g/mL}$, respectivamente, afetando o metabolismo do sistema gastrointestinal (Tan & Wang, 2023).

Atividade antitumoral

Compostos microbianos vêm ganhando atenção na imunoterapia contra o câncer devido à ampla gama de componentes, mecanismos e distintos benefícios a fim de estimular a imunidade do paciente (Anwar et al., 2022; Huang et al., 2021). As prodigininas e seus análogos se destacam nesse cenário, sendo amplamente utilizadas como drogas anticancerígenas. Com concentração média de IC_{50} de 2,1 μM , as prodigininas se mostraram eficazes em induzir a apoptose em mais de 60 linhagens de células cancerígenas humanas, incluindo melanomas, câncer de mama e leucemias (Li et al., 2022). Considerando o mecanismo de ação em células tumorais, as prodigininas podem atuar de quatro formas principais: causando danos ao DNA, acidificando o meio intracelular, modulando as proteínas quinases e induzindo a apoptose (Pérez-Tomás & Viñas, 2010).

Dentre as prodigininas indutoras de atividade anticancerígena, destaca-se a prodigiosina, pigmento vermelho extraído de bactérias Gram negativas como *Serratia marcescens* e algumas espécies de *Streptomyces sp.* Em algumas linhagens celulares, como de glioblastoma e carcinoma hepatocelular, a prodigiosina se acumula no retículo endoplasmático (RE) induzindo a morte

celular por autofagia e apoptose (Lin et al., 2024; Wang et al., 2022). Embora estudos recentes também demonstraram pouca seletividade das prodigininas em fibroblastos normais do pulmão humano (Lin et al., 2024). A prodigiosina pode atuar, também, em conjunto com outros medicamentos, como a ciclosporina A e a rapamicina, potencializando os efeitos imunossupressores de ambos (Anwar et al., 2022), ou ainda, como coadjuvante na sensibilização das células tumorais a 5-fluorouracil e cisplatina, dois agentes quimioterápicos (Berning et al., 2021; Zhao et al., 2020). Além disso a prodigiosina é capaz de inibir a via do mTOR (mammalian target of rapamycin - proteína-quinase que regula diversos processos como crescimento, proliferação, motilidade e sobrevivência celular) e da angiogênese, inibindo a proliferação de células cancerígenas e induzindo a apoptose celular com mínimo ou nenhum efeito sobre células saudáveis (Berning et al., 2021).

Outros estudos relacionam os mecanismos anticancerígenos da prodigiosina a sua possível ação na disfunção mitocondrial, atuando como sequestrador de prótons e promovendo a depleção de ATP, ocasionando a morte celular (Islan et al., 2022). Ainda a capacidade de indução da apoptose pode ser atribuída a capacidade de transporte de H^+/Cl^- através das membranas dos lisossomos (Weber et al., 2023). Alguns estudos sugerem que prodigininas também podem promover o transporte transmembranar de íons e se ligar ao cloro (Cl^-), sugerindo que podem funcionar como reguladores de pH para atingir tumores com acidez intracelular aumentada (Park et al., 2003).

Atividade antitumoral também já foi relatada por outras prodigininas como cicloheptilprodigiosina, undecilprodigiosina e estreptorrubina B. Lin e colaboradores (2024) verificaram a ação da cicloheptilprodigiosina frente a células tumorais pulmonares com valores de IC_{50} variando entre 84.89 nM to 661.2 nM demonstrando uma citotoxicidade notável, bem como evidenciaram o tropismo do pigmento pelas mitocôndrias e lisossomos celulares (Lin et al., 2024).

A atividade antitumoral e citotóxica da undecilprodigiosina, por sua vez, foi verificada frente a linhagens de células cancerígenas de cólon (HCT-116), fígado (HepG-2), pulmão (A-549) e mama (MCF-7), além de células renais embrionárias humanas saudáveis (HEK-293). Como resultado, a undecilprodigiosina demonstrou efeitos citotóxicos inibindo a viabilidade das células HCT-116, HepG-2, MCF-7 e A-549 nas concentrações de 5, 8, 4, e 7 μM com IC_{50} de 2.0, 4.7, 1.2, e 2.8 μM , respectivamente (Alzahrani et al., 2022). Em estudo desenvolvido por Han e colaboradores (2024), estreptorrubina B e undecilprodigiosina exibiram elevado potencial como a gente anticancerígeno contra células de câncer de colo humano (HCT116) com IC_{50} entre 0,002-0,37 $\mu g/ml$.

Em alguns casos, porém, a utilização de prodigininas no tratamento de tumores pode proteger células tumorais. Foi o que reportou Arshadi e colaboradores (2021) ao avaliar os efeitos da butilcicloheptilprodigiosina e undecilprodigiosina como coadjuvantes e fotossensibilizadores na radioterapia contra algumas linhagens de células tumorais de câncer de mama e pele. Apesar da undecilprodigiosina ser conhecida por induzir a apoptose celular produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs) e evitando que a célula tumoral se livre do excesso, a depender da dosagem de radiação, tanto ela quanto a butilcicloheptilprodigiosina podem agir como uma faca de dois gumes, ou seja, em baixas doses de radiação atuar como radiosensibilizadores enquanto em

altas doses pode estimular certo efeito radioprotetor (Arshadi et al., 2021).

Outro mecanismo evidenciado pela ação das prodigininas em células tumorais, é o da modulação da survivina, membro da família de proteínas inibidoras de apoptose. Em alguns tipos de tumores, a survivina é expressa de forma exagerada impactando negativamente na apoptose celular. Nesse sentido, Branco e colaboradores (2020) avaliaram o papel citotóxico de três prodigininas (prodigiosina, ciclononilprodigiosina e nonilprodigiosina) isoladas de bactérias marinhas frente a três linhagens de melanoma (SK-Mel-19, SK-Mel-28 e SK-Mel-147). Todas as três prodigininas causaram a diminuição no crescimento celular e efeitos citostáticos após 24h da administração sugerindo, segundo os autores, que baixas concentrações são eficazes no controle tumoral (Branco et al., 2020).

Outros estudos indicam a possibilidade da produção de derivados metálicos de certas prodigininas no combate a células cancerígenas. É o caso da bromação da prodigiosina, processo demonstrado por Lazic e colaboradores (2022). No referido estudo, a prodigiosina (PG) foi submetida ao processo de bromação ecológica resultando na síntese de dois derivados (PG-Br e PG-Br₂) que, por sua vez, foram testados frente a quatro linhagens de células cancerígenas (A549, A375, MDA-MB-231 e HCT116) exibindo resultados de IC₅₀ variando entre 0,62 e 17 µg/mL (Lazic et al., 2022). É possível concluir, portanto, que as prodigininas são grandes fontes de compostos antitumorais com as mais diversas funcionalidades e mecanismos.

Atividade antimicrobiana

Bactérias e fungos impactam de forma significativa a vida humana. São agentes importantes em diversos processos ecológicos e industriais com papel relevante na agricultura, no meio ambiente, na saúde humana e na segurança alimentar, provocando, em alguns casos, doenças infecciosas, poluição ambiental, perdas econômicas e resistência à antibióticos (Lu et al., 2024). Na tentativa de combater os efeitos negativos de micro-organismos patogênicos, as substâncias antibióticas possuem papel relevante. Porém, nas últimas décadas, o surgimento de micro-organismos multirresistentes devido, em parte, ao uso indiscriminado de antibióticos dificulta o tratamento de algumas doenças infecciosas e impulsiona a necessidade da descoberta de novas substâncias antibióticas.

Nesse contexto, algumas prodigininas podem ser utilizadas como substâncias antibióticas, atuando na ruptura da membrana celular, na alteração do pH citoplasmático, na clivagem do DNA, na indução de espécies reativas de oxigênio (ERO) e na alteração do metabolismo mitocondrial, por exemplo (Choi et al., 2021; Herráes et al., 2021). Nesse particular, os efeitos antimicrobianos são os mais relatados dentre as atividades biológicas das prodigininas. A ruptura da membrana plasmática pelas prodigininas está relacionada à natureza hidrofóbica da molécula que, ao penetrar na membrana, interage com a água e os lipídeos ocasionando lesões e destruição das proteínas na bicamada lipídica (Ravindran, Anishetty e Pennathur, 2020).

Para além de inibir o crescimento, algumas prodigininas interferem na fisiologia microbiana de outras maneiras. Nesse sentido, Yip e colaboradores (2021) investigaram a ação da prodigiosina na produção de protease, hemolisina e formação de biofilmes, fatores típicos de virulência bacteriana. Após os estudos, verificou-se que a prodigiosina não teve efeito na produção de

hemolisina, porém foi capaz de diminuir a atividade da protease em *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *E. coli* e *Enterococcus faecalis*, evidenciando a importância dessa molécula na sobrevivência de *Serratia marcescens*, bactéria produtora do pigmento, em ambientes naturais (Yip et al., 2021).

Na tentativa de elucidação de outros mecanismos que conferem às prodigininas os efeitos contra os micro-organismos, alguns estudos indicam correlação entre a estrutura química da molécula e os efeitos antibióticos sendo as prodigininas cíclicas, geralmente, mais efetivas quando comparadas com as lineares (Lu et al., 2024). Como exemplo é possível citar a cicloheptilprodigiosina e heptilprodigiosina que apresentam efeitos diversos na inibição do crescimento de alguns micro-organismos patogênicos. A heptilprodigiosina, em concentrações menores (até 25 μ M), demonstrou efeitos inibitórios levemente inferiores contra *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (bactérias Gram positivas) e nenhum efeito contra *Escherichia coli* e *Candida albicans*, enquanto cicloheptilprodigiosina demonstrou efeito nos quatro micro-organismos testados (Huang et al., 2020).

Efeitos antibióticos de prodigininas também foram observados na formação de biofilmes bacterianos. Estudo demonstrou que 1 μ g/mL de estreptorrubina B reduziu para menos de 30% a formação de biofilme de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) com efeito secundário no crescimento celular (Suzuki et al., 2015). Além da estreptorrubina B, a prodigiosina também demonstrou efeitos na diminuição da capacidade de formação de biofilmes. Estudo conduzido por Yip e colaboradores (2021) revelou que a prodigiosina diminuiu a capacidade de formação de biofilme em *Enterococcus faecalis*, *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium e *E. coli*.

Outra possibilidade de aplicação dos efeitos antibióticos das prodigininas é a sua utilização na formulação de produtos para cicatrização de feridas superficiais juntamente com outros compostos naturais ou não a fim de aumentar seu potencial de ação. Com o objetivo de investigar tal possibilidade, Elkenawy e colaboradores (2022) utilizaram a prodigiosina bacteriana na composição de hidrogel de alginato associado a sulfadiazina de prata, comumente utilizada como creme dermatológico para queimaduras e úlceras na pele. Após investigar o efeito em queimaduras induzidas e infectadas com *S. aureus* e *E. coli* em ratos, concluiu-se que o hidrogel pigmentado com prodigiosina demonstrou ação cicatrizante superior aos grupos controles (sem tratamento e com tratamento convencional) além de promover a diminuição da infecção microbiana e sinalizar a mudança de pH do meio por meio da alteração da cor da prodigiosina de vermelho para amarelo (Elkenawy, Karam e Aboul-Magd, 2022). Em meio ácido e neutro a prodigiosina apresenta coloração vermelha intensa típico e, em meio alcalino, sua cor muda para amarelo. O meio alcalino dificulta a cicatrização e favorece o crescimento microbiano, enquanto pH ácido ou levemente ácido beneficia a cicatrização, aumentando a atividade dos fibroblastos e a síntese de colágeno (Mariani et al., 2021). Dessa forma, compostos que alteram a cor de acordo com o pH do meio, como algumas prodigininas, podem ser utilizados como indicadores de possíveis infecções em diversos produtos como cremes cicatrizantes e tecidos.

De um modo geral, micro-organismos Gram positivos demonstram ser mais sensíveis à ação das prodigininas do que micro-organismos Gram negativos. Bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*,

Corynebacterium e *Listeria*, por exemplo, quando submetidas à tratamentos com prodigininas, exibem menores valores de Concentração Mínima Inibitória (CMI) e maiores halos de inibição a depender da metodologia empregada. Setiyono e colaboradores (2020), por exemplo, ao avaliar a ação antimicrobiana da molécula 2-metil-3-hexilprodiginina, um dos derivados da prodigiosina produzida por *Pseudoalteromonas rubra* por meio da técnica de difusão em disco, verificou que o halo de inibição em *S. aureus* era maior (10,1 mm) se comparado com a inibição de *E. coli* e *S. typhi* (9,1 mm e 8,1 mm respectivamente). Em outro estudo, o extrato bruto formado por uma mistura de undecilprodigiosina e metacicloprodigiosina obtido a partir de *Streptomyces* V₀₀₂ demonstrou maior efetividade frente à *B. subtilis*, *S. aureus* e *Micrococcus luteus*, micro-organismos Gram positivos (Gacem et al., 2020). Outras prodigininas, porém, divergem desse consenso e demonstram maior efetividade contra bactérias Gram negativas. É o caso da undecilprodigiosina que demonstrou concentração mínima inibitória (CMI) geral variando de 0,5 a 4,0 µg/mL, sendo mais efetiva contra *Pseudomonas* sp. uma bactéria Gram negativa (0,5 a 2,0 µg/mL) além de CMI da atividade antifúngica variando de 0,5 a 8,0 µg/mL (Alzahrani et al., 2022).

A maior efetividade das prodigininas em micro-organismos Gram-positivos pode estar associada à configuração da parede celular desses organismos. A membrana lipopolissacarídica extra presente nas bactérias Gram negativas atua como um obstáculo e dificulta a penetração das prodigininas e sua chegada até a membrana plasmática (Arivizhivendhan et al., 2018). Dessa forma, enquanto em bactérias Gram positivas o mecanismo de ação das prodigininas é majoritariamente físico levando a uma ruptura da parede celular, em bactérias Gram negativas as prodigininas podem interferir na expressão gênica e na síntese proteica alterando o metabolismo e o ciclo celular (Araújo et al., 2022; Metwally et al., 2021). Apesar dos diferentes modos de ação, as prodigininas são moléculas com grande potencial para a formulação de compostos antimicrobianos, fato evidenciado por diversos estudos ao longo das últimas décadas.

Avanços e perspectivas na aplicação das prodigininas

A classe das prodigininas tem sido bastante explorada no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas utilizando suas propriedades bioativas e características físico-químicas como sensibilidade ao pH, estabilidade à temperatura e facilidade de obtenção por vias reguladas.

Devido à natureza hidrofóbica, as prodigininas são difíceis de serem absorvidas e sua biodisponibilidade é reduzida, dificultando a utilização de sua forma pura. Apesar da grande maioria dos estudos reportarem efeitos de prodigininas na forma isolada, pesquisas recentes procuram combinar estratégias a fim de melhorar e ampliar os efeitos biológicos (Guryanov et al., 2020; Ponjavic et al., 2023; Nguyen, Wang & Nguyen, 2024). O principal objetivo da produção e pesquisa desses compostos é suplantando as limitações físicas e químicas das prodigininas e facilitar as aplicações médicas e biotecnológicas.

Dentre as estratégias utilizadas para intensificar a aplicação das prodigininas, é possível citar a incorporação do pigmento à filmes plásticos de biopolímeros, confecção de hidrogéis com diferentes polímeros e aplicação de nanoformas e nanocompósitos (Islan et al., 2022; Guryanov et al., 2020). Por conta da estrutura bem estabelecida e certa facilidade de obtenção, a prodigiosina é a molécula mais pesquisada para compor tais associações.

Nanocompositos envolvendo prodigininas já foram obtidos por métodos como: nanoencapsulação, conjugação metal/óxido e métodos físicos como ablação a laser, síntese eletroquímica e eletrofiação (Nguyen, Wang & Nguyen, 2024).

As nanoformas das prodigininas podem ser obtidas por meio da confecção de bionanocompósitos, uma nova classe de material nanométrico formado por um biopolímero (BP) e um composto inorgânico em tamanho nanométrico (Araújo et al., 2022). É o caso, por exemplo, do nanocompósito formado por prodigiosina e haloisita (prodigiosina@haloisita), mineral argiloso que se encontra na forma de tubos. Guryanov e colaboradores (2020) utilizaram a forma tubular da haloisita para carregar a prodigiosina e potencializar seu efeito antitumoral. Os nanotubos de haloisita apresentam baixa toxicidade e podem ser preenchidos com diferentes compostos e utilizados para liberar fármacos (Guryanov et al., 2020). No estudo citado, os nanotubos de prodigiosina@haloisita exibiram atividade citotóxica e genotóxica seletiva frente a células epiteliais de adenocarcinoma colorretal humano (Caco-2) e câncer de cólon humano (HCT116), sendo essa formulação vantajosa para tratamentos *in vivo* por conta da maior biodisponibilidade e liberação intracelular prolongada (Guryanov et al., 2020). Além disso, nanocompósitos de prodigininas tem apresentado aplicações potenciais em campos como medicina, tingimento de tecidos, embalagens alimentícias, entre outros (Nguyen, Wang & Nguyen, 2024).

Os efeitos de nanopartículas magnéticas acrescidas de prodigininas e 0,5% de quitosana demonstraram atividade anticancerígena para linhagem celular de carcinoma pulmonar (A-549) com valores de IC₅₀ de 10,8 µg/ml (Majumdar, Mandal & Mandal, 2022).

Dentre as diversas aplicações que os pigmentos possuem, uma das mais recentes é a incorporação destas moléculas em filmes bioativos, cuja aplicação é ampla. Filmes podem ser utilizados desde embalagens alimentícias, revestimentos de superfícies ou até mesmo em curativos. Os filmes de biopolímeros também podem servir de base para a aplicação de prodigininas. É o caso do Poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV), um bioplástico que apresenta propriedades térmicas e mecânicas e que pode ser utilizado para diversas aplicações (Policastro, Panico & Fabbricino, 2021). Objetivando potencial utilização biomédica e terapêutica, Ponjavic e colaboradores (2023) adicionaram a prodigiosina à filmes de PHBV e investigaram as propriedades citotóxicas. A prodigiosina afetou positivamente o grau de cristalinidade, a estabilidade térmica e a morfologia dos filmes, auxiliando na organização da estrutura interna e aumentando o ponto de fusão e degradação, além de atribuir ao PHBV efeito citotóxico significativo contra células de carcinoma colorretal HCT116 (Ponjavic et al., 2020).

O desenvolvimento de preparações tópicas e curativos visando controlar ou alterar o pH de feridas de superfícies é alvo crescente, sendo outra aplicação dos filmes inteligentes. As feridas crônicas possuem um estado de inflamação constante, que destroem componentes da matriz extracelular e aumentam os níveis de proteases degradantes que dificultam a cicatrização (Rani Raju et al., 2022). Metaloproteínases de matriz (MMPs), proteínases importantes para o processo de cicatrização são sensíveis a flutuações do pH (Lotfinia et al., 2023). Feridas crônicas possuem um pH alcalino, enquanto a pele saudável possui pH geralmente ácido. Os mecanismos de defesa do corpo humano alteram o pH local de uma ferida para efetuar a invasão e proliferação de micro-organismos, essa alteração de pH afeta também o desempenho dos antimicrobianos

prejudicando sua ação em ambientes de cicatrização. O pH pode afetar a taxa de infecção microbiana, a virulência e o fechamento da ferida, sendo o monitoramento do pH de feridas um fator importante auxiliar na conduta necessária para a cicatrização (Rani Raju et al., 2022). Nesse contexto, a incorporação de pigmentos pertencentes à classe das prodigininas em filmes inteligentes aplicados a feridas superficiais podem ser alternativas promissoras no monitoramento de infecções considerando sua sensibilidade a alterações do pH.

Considerando aplicações médicas e terapêuticas, os hidrogéis têm sido considerados alternativa promissora para liberação controlada de fármacos, em especial antibióticos para aplicação tópica. Boa parte dos hidrogéis formulados podem conter biopolímeros como a quitosana, alginato e acrilamida. Hidrogéis de quitosana são comumente utilizados para acelerar o processo de cura e cicatrização de feridas devido à sua biocompatibilidade e aos seus efeitos antimicrobianos, atóxicos, anti-inflamatórios e hemostáticos (Liu et al., 2018; Gonçalves et al., 2021).

A adição de prodigininas com atividade antimicrobiana a formulações de hidrogéis pode potencializar o efeito antibiótico presente no composto além de incrementar o processo de cura em queimaduras. Atividades antimicrobianas e cicatrizantes foram observadas em hidrogel de alginato incorporado com prodigiosina em estudo desenvolvido por Elkenawy e colaboradores (2022). Os autores relataram que o hidrogel foi mais eficaz no tratamento de queimaduras infectadas com *S. aureus* e *E. coli* quando comparado com o tratamento convencional com creme de nitrato de prata.

Conclusão

A capacidade colorante apresentada pelos pigmentos de origem natural tem despertado o interesse de pesquisadores e consumidores por novas fontes de obtenção destes compostos, contudo, conferir cor a diversos materiais é apenas uma dentre tantas propriedades promissoras recentemente associadas a estes. Produtos do metabolismo microbiano, os biopigmentos têm atraído a atenção de pesquisadores pela exibição de propriedades bioativas antimicrobianas, antioxidantes, antiparasitárias e antitumorais, por exemplo, que interferem na fisiologia e metabolismo de outras células e seres vivos e são comumente desejadas nos mais diversos setores industriais. A atividade antioxidante fortemente evidenciada em algumas prodigininas é uma característica desejável a aplicações alimentares e cosméticas, conferindo proteção a componentes celulares e possibilitando a ampliação do tempo de prateleira de alimentos. Do mesmo modo, a sensibilidade ao pH verificada em moléculas como a prodigiosina pode ser explorada na confecção de embalagens com indicadores de qualidade, auxiliando no controle de deterioração e desperdício de alimentos. Esse comportamento frente ao pH também tem motivado a adição destes pigmentos à curativos inteligentes, para monitoramento de infecções. Do mesmo modo, a citotoxicidade seletiva apresentada por algumas prodigininas também tem sugerido estas moléculas como possíveis agentes para o tratamento de condições como o câncer. Seja esta atividade protagonizada diretamente pelo pigmento ou por moléculas sintetizadas a partir da estrutura destes. Sabidamente, a capacidade bioativa apresentada por estes compostos tem sido relacionada a sua estrutura característica marcada pela presença dos três anéis pirrólicos. Estes compostos

heterocíclicos podem modular a solubilidade, polaridade, hidrofobicidade e capacidade de ligação de átomos de hidrogênio, facilitando interações entre moléculas. Não a toa, compostos naturais a base de pirróis tem sido amplamente empregados como base para o desenvolvimento de novas drogas antitumorais. Os efeitos antiparasitários, anti-inflamatórios, antioxidantes, anticancerígenos e antibióticos destes compostos têm surpreendido positivamente e motivado a busca e avaliação frequentemente de novos membros e componentes já conhecidos obtidos de outras fontes. Além disso, a aplicação conjunta de prodigininas com outras formulações como bionanocompósitos, filmes plásticos e hidrogéis ampliam as possibilidades de aplicação e desvendam um novo campo promissor de pesquisa. Ainda a aplicação destes pigmentos em larga escala pode ser viabilizada por processos de otimização de extração e purificação, e estudo dos Clusters de regulação em cepas microbianas. Estes processos combinados, ainda permitem a redução do custo de produção, por meio da utilização de substratos alternativos ou condições de cultivo e mutação de cepas selvagens (engenharia genética). Dessa forma, a diversidade estrutural e de biossíntese das prodigininas representa um novo caminho no desenvolvimento e melhoramento de componentes bioativos. Assim, revisitar as propriedades e funcionalidades dessas moléculas pode direcionar a descoberta e desenvolvimento de novos compostos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela viabilização da pesquisa e a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Declaração de divulgação

Os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesse pessoal ou financeiro.

Contribuições dos autores (CRediT)

Amanda Maria da Silva: Escrita – rascunho original, revisão, edição e conceitualização; **Arthur Travassos de Queiroz Xavier:** Escrita – revisão e edição; **Jaciana dos Santos Aguiar:** Escrita – revisão; **Gláucia Manoella de Souza-Lima:** Escrita – revisão e edição, Supervisão.

Financiamento

Este trabalho foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências

- Abdelnour, S. A., El-Saadony, M. T., Saghir, S. A. M., Abd El-Hack, M. E., Al-Shargi, O. Y. A., Al-Gabri, N., & Salama, A., 2020. Mitigating negative impacts of heat stress in growing rabbits via dietary prodiginosin supplementation. *Livest. Sci.*, 240, 104220. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104220>
- Alihosseini, F., Ju, K. S., Lango, J., Hammock, B. D., & Sun, G., 2008. Antibacterial colorants: characterization of prodiginines and their applications on textile materials. *Biotechnol. Prog.*, 24(3), 742-747. <https://doi.org/10.1021/bp070481r>

Alihosseini, F., Lango, J., Ju, K. S., Hammock, B. D., & Sun, G., 2010. Mutation of bacterium *Vibrio gazogenes* for selective preparation of colorants. *Biotechnol. Prog.*, 26(2), 352-360. <https://doi.org/10.1002/btpr.346>

Alzahrani, N. H., El-Bondkly, A. A. M., El-Gendy, M. M. A. A., & El-Bondkly, A. M., 2021. Enhancement of undecylprodigiosin production from marine endophytic recombinant strain *Streptomyces* sp. ALAA-R20 through low-cost induction strategy. *J. Appl. Genet.*, 62, 165-182. <https://doi.org/10.1007/s13353-020-00597-x>

Aman Mohammadi, M., Ahangari, H., Mousazadeh, S., Hosseini, S. M., Dufossé, L., 2022. Microbial pigments as an alternative to synthetic dyes and food additives: a brief review of recent studies. *Bioprocess. Biosyst. Eng.*, 45(1), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s00449-021-02621-8>

Amorim, L. F., Mouro, C., Riool, M., & Gouveia, I. C., 2022. Antimicrobial food packaging based on prodigiosin-incorporated double-layered bacterial cellulose and chitosan composites. *Polymers*, 14(2), 315. <https://doi.org/10.3390/polym14020315>

Anwar, M. M., Albanese, C., Hamdy, N. M., & Sultan, A. S., 2022. Rise of the natural red pigment 'prodigiosin' as an immunomodulator in cancer. *Cancer Cell. Int.*, 22(1), 419. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02815-4>

Araújo, R. G., Zavala, N. R., Castillo-Zacarías, C., Barocio, M. E., Hidalgo-Vázquez, E., Parra-Arroyo, L., ... & Parra-Saldívar, R., 2022. Recent advances in prodigiosin as a bioactive compound in nanocomposite applications. *Molecules*, 27(15), 4982. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules27154982>

Arivizhivendhan, K. V., Mahesh, M., Boopathy, R., Swarnalatha, S., Regina Mary, R., & Sekaran, G., 2018. Antioxidant and antimicrobial activity of bioactive prodigiosin produces from *Serratia marcescens* using agricultural waste as a substrate. *J. Food. Sci. Technol.*, 55, 2661-2670. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3188-9>

Arshadi, Z., Hosseini, S. A., Fatehi, D., Mirzaei, S. A., & Elahian, F., 2021. Butylcycloheptylprodigiosin and undecylprodigiosin are potential photosensitizer candidates for photodynamic cancer therapy. *Mol. Biol. Rep.*, 48, 5965-5975. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06598-1>

Barreto, J. V. D. O., Casanova, L. M., Junior, A. N., Reis-Mansur, M. C. P. P., & Vermelho, A. B., 2023. Microbial pigments: major groups and industrial applications. *Microorganisms*, 11(12), 2920. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122920>

Berning, L., Schlütermann, D., Friedrich, A., Berleth, N., Sun, Y., Wu, W., ... & Stork, B., 2021. Prodigiosin sensitizes sensitive and resistant urothelial carcinoma cells to cisplatin treatment. *Molecules*, 26(5), 1294. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26051294>

Branco, P. C., Pontes, C. A., Rezende-Teixeira, P., Amengual-Rigo, P., Alves-Fernandes, D. K., Maria-Engler, S. S., ... & Costa-Lotufo, L. V., 2020. Survivin modulation in the antimelanoma activity of prodiginines. *Eur. J. Pharmacol.*, 888, 173465. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173465>

Choe, D., 2022. Microbe-derived antimicrobial red pigments for color formation and microbial growth control in sausage: A mini-review. *Food Sci. Preservation*, 29(6), 837-851. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2022.29.6.837>

Choi, S. Y., Lim, S., Yoon, K. H., Lee, J. I., & Mitchell, R. J., 2021. Biotechnological

activities and applications of bacterial pigments violacein and prodigiosin. *J. Biol. Eng.*, 15, 1-16. <https://doi.org/10.1186/s13036-021-00262-9>

D'Orazio, N., Gammone, M. A., Gemello, E., De Girolamo, M., Cusenza, S., & Riccioni, G., 2012. Marine bioactives: Pharmacological properties and potential applications against inflammatory diseases. *Mar. Drugs*, 10(4), 812-833. <https://doi.org/10.3390/md10040812>

de Rond, T., Stow, P., Eigl, I., Johnson, R. E., Chan, L. J. G., Goyal, G., ... & Keasling, J. D., 2017. Oxidative cyclization of prodigiosin by an alkylglycerol monooxygenase-like enzyme. *Nat. Chem. Biol.*, 13(11), 1155-1157. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2471>

Ehrenkaufer, G., Li, P., Stebbins, E. E., Kangussu-Marcolino, M. M., Debnath, A., White, C. V., ... & Singh, U., 2020. Identification of anisomycin, prodigiosin and obatoxacin as compounds with broad-spectrum anti-parasitic activity. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 14(3), e0008150. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008150>

Elkenawy, N. M., Karam, H. M., & Aboul-Magd, D. S., 2022. Development of gamma irradiated SSD-embedded hydrogel dyed with prodigiosin as a smart wound dressing: Evaluation in a MDR infected burn rat model. *Int. J. Biol. Macromol.*, 211, 170-182. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.063>

Fehér, D., Barlow, R. S., Lorenzo, P. S., & Hemscheidt, T. K., 2008. A 2-substituted prodiginine, 2-(p-hydroxybenzyl) prodigiosin, from *Pseudoalteromonas rubra*. *J. Nat. Prod.*, 71(11), 1970-1972. <https://doi.org/10.1021/np800493p>

Gacem, M. A., Ould-El-Hadj-Khelil, A., Boudjemaa, B., & Wink, J., 2020. Antimicrobial and antioxidant effects of a forest actinobacterium V 002 as new producer of spectinabilin, undecylprodigiosin and metacycloprodigiosin. *Curr. Microbiol.*, 77, 2575-2583. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02007-1>

Gaikwad, K. K., Singh, S., & Negi, Y. S., 2020. Ethylene scavengers for active packaging of fresh food produce. *Environ. Chem. Lett.*, 18, 269-284. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00938-1>

Gerber, N. N., & Gauthier, M. J., 1979. New prodigiosin-like pigment from *Alteromonas rubra*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37(6), 1176-1179. <https://doi.org/10.1128/aem.37.6.1176-1179.1979>

Gerber, N. N., & Stahly, D. P., 1975. Prodiginine (prodigiosin-like) pigments from *Streptovorticillium rubrircetuli*, an organism that causes pink staining of polyvinyl chloride. *Appl. Microbiol.*, 30(5), 807-810. <https://doi.org/10.1128/am.30.5.807-810.1975>

Gerber, N. N., 1969. Prodigiosin-like pigments from *Actinomadura (Nocardia) pelletieri* and *Actinomadura madurae*. *Appl. Microbiol.*, 18(1), 1-3. <https://doi.org/10.1128/am.18.1.1-3.1969>

Gonçalves, R. C., Signini, R., Rosa, L. M., Dias, Y. S. P., Vinaud, M. C., & Lino, R. D. S., 2021. Carboxymethyl chitosan hydrogel formulations enhance the healing process in experimental partial-thickness (second-degree) burn wound healing. *Acta Cir. Bras.*, 36(3), e360303. <https://doi.org/10.1590/ACB360303>

Guryanov, I., Naumenko, E., Akhatova, F., Lazzara, G., Cavallaro, G., Nigamatzyanova, L., & Fakhrullin, R., 2020. Selective cytotoxic activity of prodigiosin@ halloysite nanoformulation. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 8, 424. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00424>

Habash, S. S., Brass, H. U., Klein, A. S., Klebl, D. P., Weber, T. M., Classen, T., ... & Schleker, A. S. S., 2020. Novel prodiginine derivatives demonstrate bioactivities on plants, nematodes, and fungi. *Front. Plant. Sci.*, 11, 579807. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.579807>

Han, E. J., Jeong, M., Lee, S. R., Sorensen, E. J., & Seyedsayamdost, M. R., 2024. Hirocidins, Cytotoxic Metabolites from *Streptomyces hiroshimensis*, Induce Mitochondrion-Mediated Apoptosis. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 63(37), e202405367 <https://doi.org/10.1002/anie.202405367>

Han, R., Xiang, R., Li, J., Wang, F., & Wang, C., 2021. High-level production of microbial prodigiosin: A review. *J. Basic. Microbiol.*, 61(6), 506-523. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100101>

Haynes, S. W., Sydor, P. K., Corre, C., Song, L., & Challis, G. L., 2011. Stereochemical elucidation of streptorubin B. *J. Am. Chem. Soc.*, 133(6), 1793-1798. <https://doi.org/10.1021/ja109164t>

He, S., Li, P., Wang, J., Zhang, Y., Lu, H., Shi, L., ... & Liu, L., 2022. Discovery of new secondary metabolites from marine bacteria *Hahella* based on an omics strategy. *Mar. Drugs*, 20(4), 269. <https://doi.org/10.3390/md20040269>

Herráez, R., Quesada, R., Dahdah, N., Viñas, M., & Vinuesa, T., 2021. Tambjamines and prodiginines: Biocidal activity against *Trypanosoma cruzi*. *Pharmaceutics*, 13(5), 705. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050705>

Hirakawa, R., Nurjanah, S., Furukawa, K., Murai, A., Kikusato, M., Nochi, T., & Toyomizu, M., 2020. Heat stress causes immune abnormalities via massive damage to effect proliferation and differentiation of lymphocytes in broiler chickens. *Front. Vet. Sci.*, 7, 46. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00046>

Hu, D. X., Withall, D. M., Challis, G. L., & Thomson, R. J., 2016. Structure, chemical synthesis, and biosynthesis of prodiginine natural products. *Chem. Rev.*, 116(14), 7818-7853. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00024>

Huang, Z., Dong, L., Lai, Q., & Liu, J., 2020. *Spartinivacinus ruber* gen. nov., sp. nov., a novel marine gammaproteobacterium producing heptylprodigiosin and cycloheptylprodigiosin as major red pigments. *Front. Microbiol.*, 11, 2056. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02056>

Ibrahim, G. S., Abdelhamid, S. A., Elmansy, E. A., Asker, M. M., & Fatma, N., 2023. Red pigment from isolated *Serratia marcescens* SEM: Structure, antimicrobial and antioxidant activity. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 54, 102932. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102932>

Islan, G. A., Rodenak-Kladniew, B., Noacco, N., Duran, N., & Castro, G. R., 2022. Prodigiosin: A promising biomolecule with many potential biomedical applications. *Bioengineered*, 13(6), 14227-14258. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2084498>

Jamróz, E., & Kopel, P., 2020. Polysaccharide and protein films with antimicrobial/antioxidant activity in the food industry: A review. *Polymers*, 12(6), 1289. <https://doi.org/10.3390/polym12061289>

Kancharla, P., Li, Y., Yeluguri, M., Dodean, R. A., Reynolds, K. A., & Kelly, J. X., 2021.

Total synthesis and antimalarial activity of 2-(p-hydroxybenzyl)-prodigiosins, isoheptylprodigiosin, and geometric isomers of tambjamine MYP1 isolated from marine bacteria. *J. Med. Chem.*, 64(12), 8739-8754. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00748>

Kancharla, P., Li, Y., Yeluguri, M., Dodean, R. A., Reynolds, K. A., & Kelly, J. X., 2021. Total synthesis and antimalarial activity of 2-(p-hydroxybenzyl)-prodigiosins, isoheptylprodigiosin, and geometric isomers of tambjamine MYP1 isolated from marine bacteria. *J. Med. Chem.*, 64(12), 8739-8754. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00748>

Kancharla, P., Smilkstein, M., Kelly, J. X., Shweta, Salem, S. M., Alhamadsheh, M., ... & Reynolds, K. A. (2011). Antimalarial activity of natural and synthetic prodiginines. *J. Med. Chem.*, 54(15), 5296-5306. <https://dx.doi.org/10.1021/jm200543y>

Kawasaki, T., Sakurai, F., & Hayakawa, Y., 2008. A prodigiosin from the roseophilin producer *Streptomyces griseoviridis*. *J. Nat. Prod.*, 71(7), 1265-1267. <https://doi.org/10.1021/np7007494>

Kiki, M. J., 2023. Biopigments of microbial origin and their application in the cosmetic industry. *Cosmetics*, 10(2), 47. <https://doi.org/10.3390/cosmetics10020047>

Kim, D., Lee, J. S., Park, Y. K., Kim, J. F., Jeong, H., Oh, T. K., ... & Lee, C. H., 2007. Biosynthesis of antibiotic prodiginines in the marine bacterium *Hahella chejuensis* KCTC 2396. *J. Appl. Microbiol.*, 102(4), 937-944. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03172.x>

Kimata, S., Izawa, M., Kawasaki, T., & Hayakawa, Y., 2017. Identification of a prodigiosin cyclization gene in the roseophilin producer and production of a new cyclized prodigiosin in a heterologous host. *J. Antibiot.*, 70(2), 196-199. <https://doi.org/10.1038/ja.2016.94>

Kimata, S., Matsuda, T., Kawasaki, T., & Hayakawa, Y., 2023. Prodigiosin R3, a new multicyclic prodigiosin formed by prodigiosin cyclization genes in the roseophilin producer. *J. Antibiot.*, 76(1), 14-19.

Kimata, S., Matsuda, T., Suizu, Y., & Hayakawa, Y., 2018. Prodigiosin R2, a new prodigiosin from the roseophilin producer *Streptomyces griseoviridis* 2464-S5. *J. Antibiot.*, 71(3), 393-396. <https://doi.org/10.1038/s41429-017-0011-1>

Koyun, M. T., Sirin, S., Aslim, B., Taner, G., & Dolanbay, S. N., 2022. Characterization of prodigiosin pigment by *Serratia marcescens* and the evaluation of its bioactivities. *Toxicol. In Vitro*, 82, 105368. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2022.105368>

Kramar, A., & Kostic, M. M., 2022. Bacterial secondary metabolites as biopigments for textile dyeing. *Textiles*, 2(2), 252-264. <https://doi.org/10.3390/textiles2020013>

Kumar, A., Gupta, V., Singh, S., Saini, S., & Gaikwad, K. K., 2021. Pine needles lignocellulosic ethylene scavenging paper impregnated with nanozeolite for active packaging applications. *Ind. Crops Prod.*, 170, 113752. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113752>

Lazic, J., Skaro Bogojevic, S., Vojnovic, S., Aleksic, I., Milivojevic, D., Kretzschmar, M., ... & Nikodinovic-Runic, J., 2022. Synthesis, anticancer potential and comprehensive toxicity studies of novel brominated derivatives of bacterial biopigment prodigiosin from *Serratia marcescens* ATCC 27117. *Molecules*, 27(12), 3729.

<https://doi.org/10.3390/molecules27123729>

Lee, C., Park, J. M., Hillman, P. F., Yoo, M., Kim, H. Y., Lee, C. S., & Nam, S. J., 2024. Anti-Melanogenic Activity of Undecylprodigiosin, a Red Pigment Isolated from a Marine *Streptomyces* sp. SNA-077, 32(4):492–498. *Biomol. Ther.* (Seoul). [10.4062/biomolther.2023.208](https://doi.org/10.4062/biomolther.2023.208)

Lee, J. S., Kim, Y. S., Park, S., Kim, J., Kang, S. J., Lee, M. H., ... & Yoon, J. H., 2011. Exceptional production of both prodigiosin and cycloprodigiosin as major metabolic constituents by a novel marine bacterium, *Zooshikella rubidus* S1-1. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(14), 4967-4973. <https://doi.org/10.1128/AEM.01986-10>

Li, P., He, S., Zhang, X., Gao, Q., Liu, Y., & Liu, L., 2022. Structures, biosynthesis, and bioactivities of prodiginine natural products. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 106(23), 7721-7735. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12245-x>

Lin, X., Dong, L., Miao, Q., Huang, Z., & Wang, F., 2024. Cycloheptylprodigiosin from marine bacterium *Spartinivacinus ruber* MCCC 1K03745T induces a novel form of cell death characterized by Golgi disruption and enhanced secretion of cathepsin D in non-small cell lung cancer cell lines. *Eur. J. Pharmacol.*, 974, 176608. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2024.176608>

Liu, H., Wang, C., Li, C., Qin, Y., Wang, Z., Yang, F., ... & Wang, J., 2018. A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing. *RSC advances*, 8(14), 7533-7549. <https://doi.org/10.1039/C7RA13510F>

Liu, X., Wang, Y., Sun, S., Zhu, C., Xu, W., Park, Y., & Zhou, H., 2013. Mutant breeding of *Serratia marcescens* strain for enhancing prodigiosin production and application to textiles. *Prep. Biochem. Biotechnol.*, 43(3), 271-284. <https://doi.org/10.1080/10826068.2012.721850>

Lotfinia, F., Norouzi, M. R., Ghasemi-Mobarakeh, L., & Naeimirad, M., 2023. Anthocyanin/honey-incorporated alginate hydrogel as a bio-based pH-responsive/antibacterial/antioxidant wound dressing. *J. Funct. Biomater.*, 14(2), 72. <https://doi.org/10.3390/jfb14020072>

Lu, Y., Liu, D., Jiang, R., Li, Z., & Gao, X., 2024. Prodigiosin: unveiling the crimson wonder—a comprehensive journey from diverse bioactivity to synthesis and yield enhancement. *Front. Microbiol.*, 15, 1412776. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1412776>

Majumdar, S., Mandal, T., & Mandal, D. D., 2022. Chitosan based micro and nano-particulate delivery systems for bacterial prodigiosin: Optimization and toxicity in animal model system. *Int. J. Biol. Macromol.*, 222, 2966-2976. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.072>

Mariani, F., Serafini, M., Gualandi, I., Arcangeli, D., Decataldo, F., Possanzini, L., ... & Scavetta, E., 2021. Advanced wound dressing for real-time pH monitoring. *ACS sensors*, 6(6), 2366-2377. <https://doi.org/10.1021/acssensors.1c00552>

Masi, M., Nedjar, D., Bani, M., Staiano, I., Salvatore, M. M., Khenaka, K., ... & Cimmino, A., 2024. An Algerian Soil-Living *Streptomyces alboflavus* Strain as Source of Antifungal Compounds for the Management of the Pea Pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi. *J Fungi*, 10(11), 783. <https://doi.org/10.3390/jof10110783>

Maurya, A., Maurya, K. K., Agarwal, A., Tripathi, A., Nandan, A., Panesar, P. S., ... & Tripathi, A. D., 2024. Effect of amino acid supplementation on prodigiosin and its derivatives production using agro-waste as potential substrate. *Indian. J. Microbiol.*, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01354-y>

Meng-Xi, L. I., Hui-Bin, H., Jie-Yun, L., Jing-Xiao, C. A. O., & Zhen-Wang, Z., 2021. Antibacterial performance of a *Streptomyces spectabilis* strain producing metacycloprodigiosin. *Curr. Microbiol.*, 78(7), 2569-2576. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02513-w>

Metwally, R. A., El Sikaily, A., El-Sersy, N. A., Ghazlan, H. A., & Sabry, S. A., 2021. Antimicrobial activity of textile fabrics dyed with prodigiosin pigment extracted from marine *Serratia rubidaea* RAM_Alex bacteria. *Egypt. J. Aquat. Res.*, 47(3), 301-305. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2021.05.004>

Mnif, S., Jardak, M., Bouizgarne, B., & Aifa, S., 2022. Prodigiosin from *Serratia*: Synthesis and potential applications. *Asian. Pac. J Trop. Biomed.*, 12(6), 233-242. <https://doi.org/10.4103/2221-1691.345515>

Mo, S., Sydor, P. K., Corre, C., Alhamadsheh, M. M., Stanley, A. E., Haynes, S. W., ... & Challis, G. L., 2008. Elucidation of the *Streptomyces coelicolor* pathway to 2-undecylpyrrole, a key intermediate in undecylprodiginine and streptorubin B biosynthesis. *Chem. Biol.*, 15(2), 137-148. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2007.11.015>

Nguyen, T. H., Wang, S. L., & Nguyen, V. B., 2024. Comprehensive overview on preparation and diverse applications of prodigiosin nanocomposites. *Research on Chemical Intermediates*, 1-42. <https://doi.org/10.1007/s11164-024-05480-6>

Olas, B., Białecki, J., Urbańska, K., & Bryś, M., 2021. The effects of natural and synthetic blue dyes on human health: a review of current knowledge and therapeutic perspectives. *Adv Nutr*, 12, 2301–2311. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab081>

Paillière-Jiménez, M. E., Stincone, P., & Brandelli, A., 2020. Natural pigments of microbial origin. *Front. Sustain. Food. Syst.*, 4, 590439. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.590439>

Park, G., Tomlinson, J. T., Melvin, M. S., Wright, M. W., Day, C. S., & Manderville, R. A., 2003. Zinc and copper complexes of prodigiosin: implications for copper-mediated double-strand DNA cleavage. *Org. Lett.*, 5(2), 113-116. <https://doi.org/10.1021/ol027165s>

Pattnaik, S., Imchen, M., Kumavath, R., Prasad, R., & Busi, S., 2022. Bioactive microbial metabolites in cancer therapeutics: mining, repurposing, and their molecular targets. *Curr. Microbiol.*, 79(10), 300. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-02990-7>

Paul, T., Bandyopadhyay, T. K., Mondal, A., Tiwari, O. N., Muthuraj, M., Bhunia, B., 2020. A comprehensive review on recent trends in production, purification, and applications of prodigiosin. *Biomass. Convers. Biorefin.*, 1-23. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00928-2>

Pereira, R. F., & de Carvalho, C. C., 2024. Improving bioprocess conditions for the production of prodigiosin using a marine *Serratia rubidaea* strain. *Mar. Drugs*, 22(4), 142. <https://doi.org/10.3390/md22040142>

Pérez-Tomás, R., & Vinas, M., 2010. New insights on the antitumoral properties of prodiginines. *Curr. Med. Chem.*, 17(21), 2222-2231. Doi: <https://doi.org/10.2174/092986710791331103>

Pérez-Tomás, R., Montaner, B., Llagostera, E., & Soto-Cerrato, V., 2003. The prodigiosins, proapoptotic drugs with anticancer properties. *Biochem. Pharmacol.*, 66(8), 1447-1452. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(03\)00496-9](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(03)00496-9)

Perveen, I., Raza, M. A., Iqbal, T., Naz, I., Sehar, S., & Ahmed, S., 2017. Isolation of anticancer and antimicrobial metabolites from *Epicoccum nigrum*; endophyte of *Ferula sumbul*. *Microb. Pathog.*, 110, 214-224. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.06.033>

Policastro, G., Panico, A., & Fabbricino, M., 2021. Improving biological production of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) co-polymer: a critical review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 20, 479-513. <https://doi.org/10.1007/s11157-021-09575-z>

Ponjavic, M., Malagurski, I., Lazic, J., Jeremic, S., Pavlovic, V., Prlainovic, N., ... & Nikodinovic-Runic, J., 2023. Advancing PHBV biomedical potential with the incorporation of bacterial biopigment prodigiosin. *Int. J. Mol. Sci.*, 24(3), 1906. <https://doi.org/10.3390/ijms24031906>

Rajendran, P., Somasundaram, P., Dufossé, L., 2023. Microbial pigments: Eco-friendly extraction techniques and some industrial applications. *J. Mol. Struct.* 1290, 135958. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135958>

Ramaprasad, E. V. V., Bharti, D., Sasikala, C. H., & Ramana, C. V., 2015. *Zooshikella marina* sp. nov. a cycloprodigiosin-and prodigiosin-producing marine bacterium isolated from beach sand. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 65(Pt_12), 4669-4673. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000630>

Ramesh, C., Anwesh, M., Vinithkumar, N. V., Kirubakaran, R., & Dufossé, L., 2021. Complete genome analysis of undecylprodigiosin pigment biosynthesizing marine *Streptomyces* species displaying potential bioactive applications. *Microorganisms*, 9(11), 2249. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112249>

Rani Raju, N., Silina, E., Stupin, V., Manturova, N., Chidambaram, S. B., & Achar, R. R., 2022. Multifunctional and Smart Wound Dressings—A Review on Recent Research Advancements in Skin Regenerative Medicine. *Pharmaceutics*, 14(8), 1574. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14081574>

Rather, L. J., Mir, S. S., Ganie, S. A., & Li, Q., 2023. Research progress, challenges, and perspectives in microbial pigment production for industrial applications-A review. *Dyes Pigm.* 210, 110989. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2022.110989>

Ravindran, A., Anishetty, S., & Pennathur, G., 2020. Molecular dynamics of the membrane interaction and localisation of prodigiosin. *J. Mol. Graph. Model.*, 98, 107614. <https://doi.org/10.1016/j.jmglm.2020.107614>

Ren, Y., Gong, J., Fu, R., Li, Z., Li, Q., Zhang, J., ... & Cheng, X., 2017. Dyeing and antibacterial properties of cotton dyed with prodigiosins nanomicelles produced by microbial fermentation. *Dyes Pigm.*, 138, 147-153. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2016.11.043>

Resende, D. I., Ferreira, M. S., Sousa-Lobo, J. M., Sousa, E., & Almeida, I. F., 2021. Usage of synthetic peptides in cosmetics for sensitive skin. *Pharmaceutics*, 14(8), 702. <https://doi.org/10.3390/ph14080702>

Sen, T., Barrow, C. J., & Deshmukh, S. K., 2019. Microbial pigments in the food industry—challenges and the way forward. *Front. Nutr.*, 6, 7. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00007>

Setiyono, E., Adhiwibawa, M. A. S., Indrawati, R., Prihastyanti, M. N. U., Shioi, Y., & Brotosudarmo, T. H. P., 2020. An Indonesian marine bacterium, *Pseudoalteromonas rubra*, produces antimicrobial prodiginine pigments. *ACS Omega*, 5(9), 4626-4635. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b04322>

Shaffer, J. M., Giddings, L. A., Samples, R. M., & Mikucki, J. A., 2023. Genomic and phenotypic characterization of a red-pigmented strain of *Massilia frigida* isolated from an Antarctic microbial mat. *Front. Microbiol.*, 14, 1156033. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1156033>

Sheiha, A. M., Abdelnour, S. A., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., Metwally, K. A., Ajarem, J. S., ... & El-Saadony, M. T., 2020. Effects of dietary biological or chemical-synthesized nano-selenium supplementation on growing rabbits exposed to thermal stress. *Animals*, 10(3), 430. <https://doi.org/10.3390/ani10030430>

Silva, A. E., Guimarães, L. A., Ferreira, E. G., Torres, M. D. C. M., Silva, A. B. D., Branco, P. C., ... & Costa-Lotufo, L. V., 2017. Bioprospecting anticancer compounds from the marine-derived actinobacteria *Actinomadura* sp. collected at the Saint Peter and Saint Paul Archipelago (Brazil). *J. Braz. Chem. Soc.*, 28, 465-474. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20160297>

Suzuki, N., Ohtaguro, N., Yoshida, Y., Hirai, M., Matsuo, H., Yamada, Y., ... & Tsuchiya, T., 2015. A compound inhibits biofilm formation of *Staphylococcus aureus* from *Streptomyces*. *Biol. Pharm. Bull.*, 38(6), 889-892. <https://doi.org/10.1248/bpb.b15-00053>

Tan, X., & Wang, X., 2023. Progress of research on prodigiosin. *Int. J. Biol. Lif. Scien*, 2(1), 35-37. <https://doi.org/10.54097/ijbls.v2i1.5426>

Thiyagarasaiyar, K., Goh, B. H., Jeon, Y. J., & Yow, Y. Y., 2020. Algae metabolites in cosmeceutical: An overview of current applications and challenges. *Mar. Drugs*, 18(6), 323. <https://doi.org/10.3390/md18060323>

Usmani, Z., Sharma, M., Sudheer, S., Gupta, V. K., & Bhat, R., 2020. Engineered microbes for pigment production using waste biomass. *Curr. Genomics*, 21(2), 80-95. <https://doi.org/10.2174/1389202921999200330152007>

Vijay, D., Baby, B., Alhayer, M. S., Vijayan, R., & Akhtar, M. K., 2022. Native production of prodigiosin in the estuarine bacterium, *Vibrio gazogenes* PB1, and identification of the associated pig genes. *Front. Mar. Sci.*, 9, 940888. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.940888>

Vitale, G. A., Sciarretta, M., Palma Esposito, F., January, G. G., Giaccio, M., Bunk, B., ... & de Pascale, D., 2020. Genomics–metabolomics profiling disclosed marine *Vibrio spartinae* 3.6 as a producer of a new branched side chain prodigiosin. *J. Nat. Prod.*, 83(5), 1495-1504. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01159>

Wang, J., Liu, H., Zhu, L., Wang, J., Luo, X., Liu, W., Ma, Y., 2022. Prodigiosin from *Serratia marcescens* in cockroach inhibits the proliferation of hepatocellular carcinoma cells through endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *Molecules*, 27(21), 7281. <https://doi.org/10.3390/molecules27217281>

Wasserman, H. H., Rodgers, G. C., & Keith, D. D., 1966. The structure and synthesis of undecylprodigiosin. A prodigiosin analogue from *Streptomyces*. Chem. Commun. (London), (22), 825-826. <https://doi.org/10.1039/C19660000825>

Wasserman, H. H., Shaw, C. K., Sykes, R. J., & Cushley, R. J., 1974. The biosynthesis of metacycloprodigiosin and undecylprodigiosin. Tetrahedron letters., 15(33), 2787-2790. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)91743-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)91743-5)

Withall, D. M., Haynes, S. W., & Challis, G. L., 2015. Stereochemistry and mechanism of undecylprodigiosin oxidative carbocyclization to streptorubin B by the Rieske oxygenase RedG. J. Am. Chem. Soc., 137(24), 7889-7897. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b03994>

Wrede, F., & Hettche, O., 1929. Über das Prodigiosin, den roten Farbstoff des *Bacillus Prodigiosus* (I. Mitteil.). *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, 62(9), 2678-2685. <https://doi.org/10.1002/cber.19290620934>

Xiao, Z., Morris-Natschke, S. L., & Lee, K. H., 2016. Strategies for the optimization of natural leads to anticancer drugs or drug candidates. Med. Res. Rev., 36(1), 32-91. <https://doi.org/10.1002/med.21377>

Yi, J. S., Kim, J. M., Kang, M. K., Kim, J. H., Cho, H. S., Ban, Y. H., ... & Yoon, Y. J., 2022. Whole-genome sequencing and analysis of *Streptomyces* strains producing multiple antinematode drugs. *BMC Genomics*, 23(1), 610. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08847-4>

Yip, C. H., Mahalingam, S., Wan, K. L., & Nathan, S., 2021. Prodigiosin inhibits bacterial growth and virulence factors as a potential physiological response to interspecies competition. PLoS One, 16(6), e0253445. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253445>

Zhao, C., Qiu, S., He, J., Peng, Y., Xu, H., Feng, Z., ... & Nie, Y., 2020. Prodigiosin impairs autophagosome-lysosome fusion that sensitizes colorectal cancer cells to 5-fluorouracil-induced cell death. *Cancer Letters*, 481, 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.03.010>

4.2 artigo 2

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ESTREPTORRUBINA B DE *STREPTOMYCES HIROSHIMENSIS*: PROPRIEDADES BIOATIVAS E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Amanda Maria da Silva¹, Edson dos Anjos dos Santos², Denise da Silva Bretan², Arthur dos Santos Montanholi², Ana Carolina Ferreira Albuquerque³, Fernando Martins Santos Júnior³, Henrique Nelson Pereira Costa Júnior¹, Raudiney Frankilin Vasconcelos Mendes¹, Rafael Matos Ximenes¹, Mariza Severina de Lima Silva¹, Alexandre José da Silva Goes¹, Máira de Vasconcelos Lima⁴, Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo⁴, Estefany Kesia da Silva¹, Jaciana dos Santos Aguiar¹, Gláucia Manoella Souza Lima-Gomes^{1*}

¹ Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-525, Recife-PE, Brasil

² Laboratório de Química Orgânica e Biológica, Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79070-900, Campo Grande -MS, Brasil

³ Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, 24020-141, Niterói-RJ, Brasil

⁴ Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife-PE, Brasil

*Autor correspondente: Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-525, Recife, Brasil, Endereço de e-mail: glaucia.mslima@ufpe.br

Resumo

A busca por pigmentos naturais e ecologicamente corretos tem crescido mundialmente devido às suas vantagens em comparação aos sintéticos, os quais são frequentemente associados a efeitos adversos à saúde e ao meio ambiente. Neste contexto, identificar novas fontes microbianas de pigmentos emerge como uma estratégia fundamental para atender às crescentes demandas por materiais sustentáveis. *Streptomyces hiroshimensis* UFPEDA 3134 foi identificada como produtora do pigmento vermelho estreptorrubina B, o qual teve suas propriedades físico-químicas e biológicas avaliadas. Este composto, pertencente à classe das prodigininas e ainda pouco explorado, foi produzido em meio de cultura ISP-2 sob condições de cultivo submerso e estático. A estreptorrubina B mostrou um pico de absorção em ~530 nm e é caracterizada por sua estabilidade térmica entre 50°C e 98°C, além de sensibilidade a variações de pH entre 2 e 11. Análises termogravimétricas

indicaram eventos de degradação a 119,5°C e 276°C. Avaliações de seu potencial biotecnológico incluíram testes antimicrobianos, citotóxicos e genotóxicos. A estreptorrubina B exibiu atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* MRSA em concentrações de 125 µg/mL e 250 µg/mL, com baixa toxicidade em modelos como *Caenorhabditis elegans*, *Galleria mellonella* e *Biomphalaria glabrata*. Testes de genotoxicidade revelaram danos ao DNA de forma dependente da concentração, com menores danos observados até 0,1 mg/mL. Portanto, estreptorrubina B possui um promissor potencial biotecnológico, justificando investigações adicionais para futuras aplicações.

Introdução

Desde tempos antigos, substâncias colorantes são empregadas para adicionar ou intensificar cores em diversos materiais utilizados cotidianamente. Os pigmentos, moléculas de elevado valor comercial, têm experimentado um aumento na demanda devido à sua ampla gama de aplicações em setores como cosméticos, alimentos, tecidos e medicamentos [1]. Entre as fontes de pigmentos naturais, micro-organismos, plantas e animais são considerados potenciais reservatórios de biomoléculas de interesse humano [2]. Os pigmentos de origem microbiana, em particular, atraem a atenção de diversos setores industriais por suas propriedades bioativas, tais como antioxidante, antitumoral e antimicrobiana, e pela possibilidade de produção em larga escala a baixo custo [3].

Micro-organismos representam as fontes mais promissoras para a obtenção de biopigmentos, dada a independência de condições sazonais e a possibilidade de manipulação genética para otimizar o rendimento e a extração desses compostos [4,5]. Dentre os micro-organismos, as actinobactérias são amplamente reconhecidas por seu potencial na produção de metabólitos úteis, incluindo pigmentos [6]. Gêneros como *Streptomyces*, *Nocardia*, *Micromonospora*, *Actinoplanes* e *Streptosporangium*, todos pertencentes ao filo das Actinobactérias, têm sido associados à produção de aproximadamente 75% dos antibióticos e outras moléculas bioativas [7].

Prodigininas, uma extensa família de pigmentos vermelhos alcaloides caracterizados por três anéis pirrólicos, podem ser obtidos naturalmente ou sintetizados quimicamente [3]. Esta família, que inclui compostos como

prodigiosina, undecilprodigiosina e estreptorrubina B, tem potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos e aditivos alimentares [8; 9; 10]. Em particular, estreptorrubina B, um pigmento com atividades biológicas significativas, como antimicrobianas e antiparasitárias, ainda é pouco descrito na literatura e representa um campo promissor para futuras pesquisas [11; 12].

Estreptorrubina B (2-butil-11-[(E)-[3-methoxy-5-(1H-pirrol-2-il) pyrrol-2-ilidene) methyl] -10-azabicyclo [7.2.1] dodeca-1(11),9(12) – diene), é um pigmento vermelho sintetizado a partir de carbociclicização oxidativa da undecilprodigiosina [13; 14]. Ainda pouco descrita na literatura, a estreptorrubina B é reportada como importante membro da família das prodigininas. Produzido primariamente por actinobactérias este pigmento foi isolado pela primeira vez em 1975, por Gerber, que classificou a estrutura inicialmente como butilcicloheptilprodigiosina, sendo reconhecido como estreptorrubina B nos anos seguintes. A dificuldade de identificação da estreptorrubina é frequentemente relatada na literatura, o que compromete a sua identificação. Estudos realizados em 2008 por Challis e colaboradores e Thomson e colaboradores concluíram que a molécula produzida por *S. coelicolor* não correspondia a butilcicloheptilprodigiosina, mas a estreptorrubina B que também possui atropoisômeros [15]. Estreptorrubina B possui relatos de atividades biológicas como efeito antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) [11; 16] e atividade anti-parasitária [12].

De modo geral, pirróis de ocorrência natural aparecem como núcleo estrutural em muitas moléculas bioativas, são azóis de cinco membros que possuem propriedades interessantes como corantes naturais funcionais, antifúngicos, anti-inflamatórios, antioxidantes, antitumorais e quimiossensores para bioimagens em células vivas de carcinoma hepatocelular humano [17]. Assim, a obtenção de prodigininas por novas fontes microbianas, como espécies de *Streptomyces* sp., representa uma alternativa promissora para obtenção de novos compostos bioativos [7].

Neste contexto, este estudo visa identificar o micro-organismo *Streptomyces* sp. UFPEDA 3134, isolado do solo da Caatinga em Pernambuco-Brasil [18], avaliar a produção de pigmento, caracterização estrutural, e avaliação das características físico-químicas e do potencial biotecnológico do composto extraído.

METODOLOGIA

OBTENÇÃO E REATIVAÇÃO DO MICRO-ORGANISMO

O micro-organismo *Streptomyces* sp UFPEDA 3134 foi obtido da coleção de micro-organismos UFPEDA pertencente à Universidade Federal de Pernambuco. A linhagem isolada da rizosfera da Caatinga foi reativada em meio ISP-1, sob agitação de 200 rpm por cinco dias. Após esse período, a cultura foi semeada em placa de Petri contendo ágar ISP-2 e incubadas por cinco dias, a 37°C. As análises da micromorfologia da linhagem foram realizadas segundo a técnica de Shirling e Gottlieb (1966) [19].

Identificação do micro-organismo

Caracterização fenotípica

O micro-organismo foi semeado nos meios de cultura do Projeto Internacional de Streptomyces (ISP). Ágar triptona-extrato de levedura (ISP-1), Ágar extrato de levedura- extrato de malte (ISP-2), Ágar farinha de aveia (ISP-3), Ágar amido- sais inorgânicos (ISP-4), Ágar glicerol-asparagina (ISP-5), Ágar peptona, extrato de levedura, ferro (ISP-6), Ágar tirosina (ISP-7). Após incubação a 37°C durante 14 dias, as características morfológicas, culturais e fisiológicas das estirpes foram observadas e descritas de acordo com o método do ISP [19].

Caracterização bioquímica do micro-organismo

A caracterização bioquímica do micro-organismo foi realizada a partir de ensaios de avaliação da degradação de fontes de carbono, do Tween, e gelatina, avaliação da produção de ácidos a partir de fontes de carbono, avaliação da tolerância a modificações de temperatura e pH, tolerância a concentrações de cloreto de sódio e perfil de susceptibilidade a antibióticos [18].

Na avaliação da degradação das fontes de carbono guanina (0,4%), hipoxantina (0,4%), amido (0,1%), xilana (0,4%) e L-tirosina (0,5%), foi utilizado o meio ágar Bennett's modificado suplementado com a fonte de carbono [18; 20]. A avaliação da degradação do Tween 20 e Tween 80 a 1%(v/v) foi realizada no meio Sierra's [21] após 14 dias de incubação a 37° C. A degradação da gelatina 0,4% e 1% foi avaliada no meio Gordon [22] por 14 dias a 37° C. A produção de

ácidos a partir das fontes de carbono dextrina, D-trehalose, manitol, D-maltose, Myo-inositol, D-xilose, L-arabinose, L-rhamnose, adonitol, manose, glicose, sacarose, D-lactose, D-sorbitol e D-celobiose foi observada no meio de cultivo ágar ISP-9 [19] adicionado de soluções de 1 % (p/v) do carboidrato e 0,025% de indicador vermelho de fenol. incubadas por 10 dias a 37° C.

O crescimento e tolerância a modificações de temperatura (4 °C, 25 °C, 37 °C e 45 °C), pH (pH 4, 5, 9 e 10) e ao teor de cloreto de sódio (1%, 3%, 5%, 7% e 10%), foram observados no meio de cultivo glicose extrato de levedura ágar, sendo os diferentes valores de pH obtidos a partir da combinação das soluções tampão A (KH_2PO_4 -0,2 M) e B (K_2HPO_4 - 0,2 M). As placas contendo o micro-organismo foram incubadas a 37 °C durante 10 dias [23]. O perfil de resistência a antibióticos foi verificado utilizando a técnica de difusão em disco descrita por Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966). Os resultados foram interpretados de acordo com a CLSI [24]. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Microscopia Eletrônica de Varredura

As propriedades morfológicas do isolado foram investigadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O isolado foi cultivado em ágar ISP-2 e ágar farinha de aveia (ISP-3) durante 15 dias a 37 °C. As amostras foram coletadas e lavadas com solução salina (pH 7,2) por 3 vezes durante 10 minutos cada e fixadas com glutaraldeído 2,5% com verde malaquita 0,05% em tampão fosfato 0,1M por 1h a 28 °C. Após a fixação, as amostras foram novamente lavadas com tampão fosfato 0,1M por 10 minutos. Em seguida, as amostras foram gradativamente desidratadas em etanol (PA) nas concentrações de 50%, 70% e 90% (durante 5 minutos cada) e na concentração de 100% por 3 vezes por 10 minutos. Em sequência, as amostras foram imersas em Hexametildisilazane (HMDS) 50% e 100% por 5 minutos para secagem. Após o tratamento com o HMDS, as amostras foram mantidas em dessecador por 24h e em seguida foram montadas em suportes de alumínio, metalizadas com ouro (espessura de 10nm) e observadas ao Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL JSM 5600 LV.

Análise Molecular: Extração, Amplificação e Sequenciamento genético

A extração total do DNA foi realizada de acordo com Sambrook e David,

(2001) [25] com adaptações. Após o cultivo celular por 16 horas em caldo ISP-2, a 37 °C e 150 rpm em mesa agitadora, a amostra foi centrifugada a 5590 x g por 5 minutos e o sobrenadante descartado. A massa celular foi ressuspensa em tampão TEG (25 mM Tris-HCl, pH 8,0, 10 mM EDTA, 50 mM glicose) a qual foram adicionadas lisozima (4 mg.L⁻¹) e solução de RNase (20 mg/ml). As amostras foram incubadas em banho-maria a 37 °C por 20 minutos. Em seguida, foram adicionados SDS (Solução de Dodecil Sulfato de Sódio 10%) e proteinase K (150 µg/ml), onde seguiram novamente para banho-maria por 15 minutos a 65 °C. Após esse período, a amostra foi centrifugada sob refrigeração a 5590 x g por 5 minutos e o sobrenadante foi transferido para outro microtubo novo e esterilizado. Posteriormente, foi adicionada solução de clorofil 24:1 v/v (clorofórmio + álcool isoamílico). A amostra foi centrifugada sob refrigeração a 2012 x g por 3 minutos e a fase aquosa resultante foi transferida para outro microtubo. Em seguida, foram adicionados 3 M de acetato de sódio, pH 5,2 e 0,6 V de isopropanol (P.A), homogeneizando o conteúdo. A amostra foi centrifugada por 10 minutos a 5590 x g. O sobrenadante foi descartado, e o pellet foi lavado com etanol (70%) e centrifugado por três minutos a 5590 x g. O sobrenadante foi descartado e após a secagem do pellet, o tampão TEG (10 mM Tris-HCl, pH 8,0, 1 mM EDTA) foi incorporado. A integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 0,8% usando tampão de amostra e DNA extraído. Posteriormente, foi realizada a amplificação do gene 16S rRNA pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando oligonucleotídeos universais para Eubacteria 27F (5'-11GAG TTT GAT CCT GGC TCA G-3') e 1492R (5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT-3'), utilizando, para cada reação: DNA (40 ng), tampão (10x), cloreto de magnésio (MgCl₂) (50 mM), desoxirribonucleotídeos fosfatados (dNTPs – 10 mM), oligonucleotídeos diretos (Oligo d) e reversos (Oligo r) (25pmol/L), água destilada estéril e Taq DNA polimerase (50U/µL, 500U). As condições utilizadas no termociclador para amplificação foram: desnaturação inicial a 94 °C por 5 minutos, 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 45 segundos, anelamento a 52 °C por 45 segundos, extensão a 72 °C por 2 minutos e extensão final a 72 °C por 5 minutos. O produto da PCR foi sequenciado usando o sequenciador Genetic Analyzer 3500 ABI do Laboratório de Genética Molecular Humana (LGMH) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), e a sequência resultante foi comparada a todas as

sequências disponíveis no GenBank usando o software BLAST do National Information Center on biotechnology (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). As sequências foram alinhadas com o software Clustal, e uma árvore filogenética foi construída com Mega 7 usando o método neighbor-joining. A topologia da árvore foi avaliada por análise bootstrap (1000 reamostragens). As sequências obtidas foram depositadas no GenBank.

PRODUÇÃO, EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO PIGMENTO

A produção e extração do pigmento foram realizadas conforme condições definidas por Silva et al., (2022) [18]. Para a produção do pigmento foi utilizado como substrato o meio de cultura ISP-2. Foi realizado um pré-inóculo do micro-organismo a partir de uma cultura de sete dias, adicionando 5 spots da cultura crescida em ágar à frascos Erlenmeyers de 250 mL, contendo 50mL de caldo ISP-2. O cultivo foi realizado durante 48 horas a 37 °C sob agitação (150 rpm). Posteriormente, 5 ml do pré-inóculo, contendo esporos do micro-organismo, foram transferidos para frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL do caldo ISP-2 para fermentação. Os frascos foram incubados durante 48 horas a 37°C e 150 rpm e em condições estáticas (mantidos em estufa de 37°C e acompanhados a cada 24h durante 7 dias). Após o cultivo, o pH do meio foi avaliado e o conteúdo fermentado foi centrifugado a 12298 x g, durante 10 min a 4°C. Em seguida, o pellet celular foi lavado com água destilada esterilizada. A biomassa obtida foi quantificada pelo método gravimétrico e armazenada sob refrigeração. Todos os ensaios foram realizados em triplicata [2]. A extração do pigmento foi realizada a partir da ruptura celular da biomassa obtida na fermentação. O solvente etanol foi adicionado à biomassa úmida (3:1 v/p), e mantido sob agitação mecânica, durante 24 horas. Foram efetuadas extrações sucessivas até que as células estivessem descoradas. Posteriormente, o extrato etanólico bruto foi filtrado por sistema de filtração simples e concentrado a 40°C em rotaevaporador Fisatom, Modelo 558 [26]. A concentração relativa do pigmento foi determinada utilizando espectrofotômetro UV-vis. A amostra foi dissolvida em etanol absoluto e submetida a uma varredura entre 200 e 900 nm para avaliação da concentração de pigmentos. A concentração do pigmento foi expressa em unidade de absorbância (UA) [27].

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

O extrato bruto foi concentrado em rotaevaporador sob condições de pressão reduzida a 40°C e posteriormente analisado por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). O pigmento foi dissolvido em acetato de etila e aplicado na cromatofolha de alumínio CCD contendo Sílica Gel 60 (ϕ μ m²-25), sobre poliéster e ou/alumínio T-6145 da Sigma Chemical CO, 60mm x 100mm, e determinado o melhor sistema de eluição. Os eluentes utilizados foram: hexano, clorofórmio, diclorometano, acetato de etila, e metanol, puros ou combinados e proporções crescentes de polaridade.

O cromatograma foi analisado em lâmpada UV entre 200 e 400 nm e determinado o valor do Fator de Retenção (R_f) [28]. O fracionamento e purificação das frações bioativas foram realizados por cromatografia clássica em coluna (sílica gel 60 e Sephadex LH-20) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). As frações obtidas na cromatografia foram analisadas em Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA).

Para a elucidação estrutural das substâncias obtidas foram utilizadas as técnicas espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear RMN de ¹H e ¹³C, análise de massas de alta resolução por *electrospray* (HRMS-ESI) e espectro de Dicroísmo Circular Eletrônico (DCE).

Caracterização e Identificação estrutural do corante extraído de *Streptomyces* sp.

Os compostos purificados foram submetidos a análises espectroscópicas de RMN de ¹H e ¹³C solubilizados em Clorofórmio (CDCl₃) contendo 0,03 % de Tetrametilssilano (TMS), utilizado como referência interna. Os espectros de RMN de ¹H foram obtidos em 500 MHz e ¹³C (*broadband decoupled*, BBD) em 125 MHz, em espectrômetro de modelo Bruker AV 500b localizado no Laboratório de Ressonância Magnética (LabRMN) do Instituto de Química (INQUI)-UFMS. As análises de massas de alta resolução por *electrospray* (HRMS-ESI) foram realizadas em um espectrômetro de massas ESI-qTOF microTOF-Q III (BrukerDaltonics) localizado no Laboratório de Produtos Naturais e

Espectrometria de Massas (LaPNEM) da Faculdade de Alimentos e Nutrição (FACFAN)-UFMS, operado em modo positivo (120-1200 Da) através da inserção direta da amostra com ionização por *electrospray*.

O espectro de Dicroísmo Circular Eletrônico (DCE) do pigmento foi obtido em um espectrômetro Jasco-1100 localizado no Instituto de Química da UFF. O espectro de DCE foi adquirido na região de 400-600 nm, utilizando os seguintes parâmetros: largura de banda de 1 nm; resposta de 1 s; velocidade de varredura de 100 nm min⁻¹; 3 acumulações; temperatura ambiente (25 °C); amostra em solução de acetonitrila; caminho óptico de 0,1 cm; concentração de 0,1 mg ml⁻¹.

Estudo de solubilidade e estabilidade do pigmento

Avaliação da solubilidade e estabilidade do pigmento à temperatura e pH

O extrato bruto do pigmento foi submetido ao ensaio de solubilização em diversos componentes. O pigmento foi adicionado à água e a solventes orgânicos tais como etanol, metanol, hexano, acetato de etila, clorofórmio e dimetilsulfóxido (DMSO) [2].

Para avaliar a estabilidade do pigmento a temperatura 0,5 mg/mL do pigmento bruto foi solubilizado em etanol e em solução tampão fosfato de sódio (pH 7,5). As amostras foram acondicionadas em tubos de ensaio fechados e submetidas ao aquecimento em banho-maria nas temperaturas de 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, 90°C e 98°C, durante 15 min, em seguida foram mantidas em repouso por 10 min. As alíquotas foram retiradas e analisadas em espectrofotômetro UV-vis 470- 540 nm no comprimento de onda de 540 nm comprimento de onda de absorção máxima [2]. A degradação da amostra foi avaliada através da fórmula: $D_c = A/A_0 \times 100$. sendo D_c a constante de degradação observada, A_0 a absorbância da amostra controle (não submetida a de temperaturas) e A = Leitura da amostra na condição avaliada [29].

O efeito do pH foi verificado retirando uma alíquota de 2 mL do extrato etanólico e ajustando o valor do pH para a condição desejada (pH 2 a 11). As amostras foram posteriormente analisadas em espectrofotômetro UV-vis 470-540 nm [2, 30].

Análises Termogravimétricas

As características térmicas do pigmento também foram determinadas utilizando analisador Termogravimétrico (TGA), NETZSCH, modelo STA 449 F3 Júpiter. As amostras foram colocadas em um cadinho de alumina com rampa de aquecimento programada de 25 a 900 °C, a uma taxa de 20°C.min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio numa vazão de 50 mL.min⁻¹ [31].

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana do pigmento foi avaliada utilizando a técnica de microdiluição em placas multipoços, conforme protocolo do Clinical and Laboratory Standards Institute [24]. Para a realização dos ensaios, amostras de 10mg/mL do pigmento bruto e 10 mg/mL da fração purificada foram solubilizadas em etanol. Os ensaios foram realizados partindo da concentração de 1000 µg/mL das amostras frente aos micro-organismos: *Candida parapsilosis* URM 6951, *Candida guilliermondii* URM 5715, *Staphylococcus aureus* e isolados *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina (MRSA) a fim de determinar a concentração mínima inibitória. Foram utilizados como controle positivo gentamicina para as bactérias, e anfotericina para as leveduras. As microplacas foram cultivadas em estufa a 37 °C por 18-24 horas. A Concentração Mínima Bactericida e Fungicida (CMB e CMF) foi determinada pelo semeio das amostras em ágar Muller Hinton e Roswell Park Memorial Institute - 1640 (RPMI) seguida de incubação em estufa a 37° C por 24 h. As microplacas foram reveladas com a adição de 20 µL de resazurina a 0,01% e incubadas por 1-4 horas para observar a mudança de coloração nos poços [24].

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA *IN VIVO*

Os ensaios de toxicidade *in vivo* foram realizados nos modelos *Galleria mellonella*, *Caenorhabditis elegans* e *Biomphalaria glabrata*.

Ensaio de toxicidade em larvas de *Galleria mellonella*

Para avaliar a toxicidade do pigmento foram utilizadas larvas de *G. mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) saudáveis entre o 5º ou 6º estágio de desenvolvimento (aproximadamente 2-3cm) com peso entre 200 a 300mg

conforme Peleg, *et al* (2009) [32]. As larvas foram divididas em dois grupos (controle e teste) de 20 indivíduos em placas de Petri. Foram injetados 10 µl do pigmento (bruto e purificado) na concentração de 5 e 2 mg/mL na última pró-pata esquerda. Após a administração do pigmento os grupos foram incubados a 37°C no escuro por 7 dias [33 – 35]. Após 18 horas de infecção, foi realizada a análise da mortalidade larval, sendo número de larvas mortas monitorado diariamente. Foram consideradas mortas larvas que não apresentaram movimento quando tocadas com pinça de dessecação, sendo descartadas e contabilizadas. Para detectar sinais de toxicidade foram observados parâmetros como viabilidade dos hemócitos, alteração de cor e melanização [33 – 35].

Para contagem de hemócitos viáveis, foi coletado 20 µl de hemolinfa das larvas após 24h e adicionado 20 µl de azul de tripan a 0,02% em PBS, sendo observada em câmara de Neubauer. Para a quantificação da melanização, uma solução de 20 µL de hemolinfa em 80 µL de IPS foi adicionado a placas de 96 poços (n = 8). Após 5 min, as densidades ópticas dos poços foram lidas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 405 nm [33 – 35].

Ensaio de Toxicidade aguda em *Caenorhabditis elegans*

Para o ensaio de toxicidade aguda foi utilizada a linhagem Bristol N2 (tipo selvagem), oriunda do *Caenorhabditis* Genetic Center – CGC (Minneapolis, MN, EUA) e mantida no Laboratório de Etnofarmacologia e Fitoquímica – ETNO/UFPE. Para realização dos ensaios foram selecionados vermes adultos (no estágio L4). Os nematoides foram mantidos em meio ágar NGM (do inglês, Nematode Growth Medium) e semeado com *Escherichia coli* OP₅₀ sob condições padrão [36]. Para realização dos testes, os nematoides foram sincronizados com solução hipoclorito de sódio conforme descrito por Tampakakis, *et al* (2008) [37]. Os nematoides em estágio L4 foram coletados e lavados cinco vezes com solução tampão M9 (3g/L KH₂PO₄; 6g/L Na₂HPO₄; 5g/L NaCl; 1M MgSO₄) para retirada das bactérias aderidas à cutícula e então mantidos em tampão M9 suplementado com colesterol (5 µg/mL) [38, 39]. Em seguida, os nematoides foram transferidos para placa de 96 poços (20 adultos/poço). Os extratos foram diluídos em tampão M9 em concentrações seriadas de 10 a 0,156 mg/mL, com volume final de 200 µL/poço. A longevidade dos nematoides foi avaliada diariamente pela contagem de nematoides vivos e mortos após 24 h de

exposição. Os nematoides foram identificados como mortos quando não apresentavam movimentos espontâneos no intervalo de 10 segundos e não tinham batimento faríngeo [39, 40]. Pelo menos dois experimentos independentes foram realizados em triplicada. A concentração letal 50% (LC₅₀) foi calculada por regressão não-linear.

Ensaio de toxicidade aguda em *Biomphalaria glabrata*

No ensaio de toxicidade aguda foram utilizados moluscos adultos e sexualmente maduros. Para a realização deste ensaio foram utilizados 5 grupos de sete animais, cujas conchas apresentavam tamanho entre 10 e 14 mm. Os moluscos foram depositados em diferentes aquários para a realização dos ensaios. Foram avaliadas soluções do pigmento nas concentrações de 0,4 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0,1 mg/mL dissolvidos em etanol e água. Os animais foram adicionados a recipientes plásticos contendo 20mL da solução do pigmento e incubados por 24h. Após o período de incubação a solução de pigmento foi desprezada e os animais lavados com água filtrada e desclorada.

A taxa de sobrevivência foi avaliada após 24 horas e acompanhada durante 8 dias. Foram considerados como mortos animais que apresentaram despigmentação de concha, perda de hemolinfa, falta de batimentos. Tais alterações foram observadas com o auxílio de um estereomicroscópio (M3B; Wild Heerbrugg).

Ensaio de embriotoxicidade em *Biomphalaria glabrata*

O ensaio de embriotoxicidade foi realizado utilizando embriões de *Biomphalaria glabrata* [41, 42]. Foram selecionados 100 embriões na fase de Blástula para cada concentração do pigmento a ser testada e os controles. Para este ensaio foi produzida uma solução de pigmento a 0,8 mg/mL a qual foi diluída para obtenção das demais concentrações (0,8 mg/mL, 0,4 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,025 mg/mL). Os embriões selecionados foram adicionados em placas de Petri 60x15 mm contendo 7mL do pigmento diluído em água e etanol, ficando expostos a solução do pigmento durante 24h. Como controle negativo foi utilizado água filtrada desclorada, e como controle positivo foi utilizada uma solução de niclosamida a 1µg/mL. Após o período de exposição os embriões foram lavados com água filtrada desclorada e mantidos em placas

de Petri contendo apenas água filtrada e desclorada durante oito (8) dias consecutivos [42]. Os ensaios foram realizados em triplicata. A qualidade da água e pH foram monitoradas durante todo o período do experimento. Para a avaliação da toxicidade os embriões foram observados com o auxílio de estereomicroscópio (M3B; Wild Heerbrugg) e classificados como viáveis (desenvolvimento normal das fases embrionárias e eclosão) ou inviáveis (malformados ou mortos).

Ensaio de citotoxicidade em hemócitos de *Biomphalaria glabrata* adultos

O ensaio de citotoxicidade foi realizado conforme descrito por Lima, *et al* (2019)[42] e Pavlica, *et al* (2000)[43]. Os moluscos foram separados em grupos de sete animais, os quais foram submetidos a três diferentes concentrações do pigmento (0,4 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0,1 mg/mL dissolvidos em etanol e água) e incubados por 24h. Após o período de incubação foi realizada a avaliação de hemócitos dos animais que sobreviveram a exposição.

Foram coletados 100 µL de hemolinfa de cada molusco, e depositados sobre lâminas de microscopia, adicionado de 100 µL de solução de preservação composta por ácido etilenodiaminotetracético dissolvido em solução de Ringer 10Mm. Posteriormente as lâminas foram mantidas em câmara úmida por 40 min, em seguida, foram adicionados 200µL de glutaraldeído na solução de Ringer a 1% v/v por 10 min. Posteriormente as lâminas foram lavadas com solução de Ringer e coradas com Giemsa a 5% (v/v) por 8 min. Em seguida as lâminas foram lavadas com água destilada e deixadas para secar a 25 °C. Para a obtenção dos resultados, foram analisadas 1000 células por grupo tratado utilizando microscópio óptico (aumento de 1000x; Leica DM1000). Os experimentos foram realizados em triplicata e as alterações morfológicas classificadas em apoptose, micronúcleos e binucleação.

Ensaio Cometa

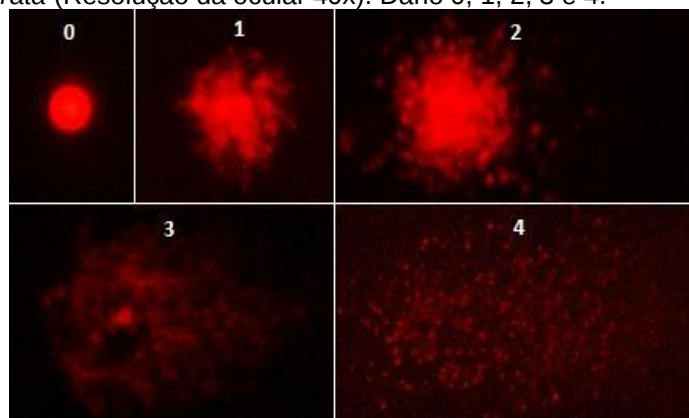
O ensaio cometa alcalino foi realizado utilizando hemócitos de *Biomphalaria glabrata* [44, 45]. Após a exposição as concentrações do pigmento, foram retirados 100 µL de hemolinfa a qual foi homogeneizada em agarose de baixo peso molecular (1:1). A misturada foi adicionada a lâminas de microscopia e recoberta com solução de agarose a 1,5% dissolvidas em tampão PBS (pH

7,4) sobre a qual foram adicionadas lamínulas. As lâminas foram incubadas a 4 °C por 10 min.

Posteriormente as lamínulas foram retiradas e as lâminas incubadas em solução de lise (NaCl 2,5 M, EDTA 100 mM, Tris 10 mM, Triton-X 100 1% e DMSO 10%, pH 10,0) por 12h a 4°C. Após a lise as lâminas foram incubadas em solução tampão alcalina (pH 13) por 20 min em cuba de eletroforese. Em seguida a eletroforese foi realizada durante 20 min (4°C) a 0,74 V/cm e 300 mA. Ao final do processo as lâminas foram neutralizadas com tampão tris (0,4 M, pH 7,5), fixadas em álcool absoluto por 10 min e armazenadas a 4 °C. Para a realização da leitura, as lâminas foram coradas com 50 µL de solução Syber safe (Invitrogen 1:500). As análises foram realizadas em microscópio de fluorescência (Nikon H550L) em ampliação de 400x com filtro de emissão 500-550 nm. Foram avaliadas 100 células por lâmina, sendo os nucleoides classificados em 5 categorias de dano ao DNA (0, 1, 2, 3 e 4), dependendo da extensão. A categoria 0 indica que não ocorreu danos, enquanto as categorias de 1 a 4 indicam danos em níveis crescentes sobre o material genético, de acordo com Collins *et al* (2008) [46] (**Figura 1**). A avaliação do grau de dano ao DNA, foi realizada conforme o Índice de Dano (ID) e a Frequência de Dano (FD%). O ID foi calculado de acordo com a formula: ID = 0 (número de cometas categoria 0) + 1 (número de cometas categoria 1) + 2 (número de cometas categoria 2) + 3 (número de cometas categoria 3) + 4 (número de cometas categoria 4). O FD% foi calculado como o valor percentual de todos os cometas com dano ao DNA (categoria 1 – 4) em relação ao número total de cometas (categorias 0 – 4), de acordo com a fórmula:

$$FD\% = \frac{[(N^{\circ} \text{ total de cometas} - N^{\circ} \text{ de cometas categoria 0})100]}{N^{\circ} \text{ total de cometas}}$$

Figura 1. Categorias de cometas de acordo com a migração de ADN de hemócitos de *Biomphalaria glabrata* (Resolução da ocular 40x). Dano 0, 1, 2, 3 e 4.



Fonte: a autora

Análises Estatísticas

A curva de sobrevivência e a estimativa das diferenças de sobrevivência foram determinadas pelo teste Log-rank (Mantel-Cox). Os resultados da contagem da viabilidade de hemócitos e da melanização da hemolinfa foram analisados estatisticamente por ANOVA, complementado pelo teste de Tukey. O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5% ($p \leq 0,05$). Todas as estatísticas foram realizadas com o software GraphPad Prism 9.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Identificação do micro-organismo

O isolado UFPEDA 3134 foi identificado como pertencente ao gênero *Streptomyces*. O micro-organismo é Gram-positivo, apresenta desenvolvimento de micélio substratal fortemente aderido à superfície do meio de cultura e micélio aéreo bem desenvolvido em filamentos que se ramificam e produzem cadeias de esporos. O isolado, apresentou capacidade de degradação do amido, hipoxantina, xilana, L-tirosina, tween 20, tween 80, gelatina 0,4 % e 1%, produção de ácido a partir de Dextrina, D-trehalose, D-maltose, Adonitol, Manose. Além disso, apresenta crescimento nas diferentes faixas de pH (4, 5, 9 e 10) e em temperaturas de 25°C a 45°C, com temperatura ótima de crescimento à aproximadamente 37°C. Apresenta tolerância a concentrações de NaCl de 1%, 3%, 5% e 7%. O micro-organismo apresentou sensibilidade intermediária a Vancomicina (30 µg), sensibilidade a estreptomicina (10 µg), e resistência a Gentamicina (10 µg), Tobramicina (TOB 10), Ácido Nalidíxico (30 µg),

Rifampicina (5 µg) e Cefoxitina (CFO 30). O micro-organismo apresenta produção de pigmento vermelho atrelado a sua biomassa, quando cultivado em meio caldo ISP-2 e cresce bem em todos os meios ISP (**Tabela 1**).

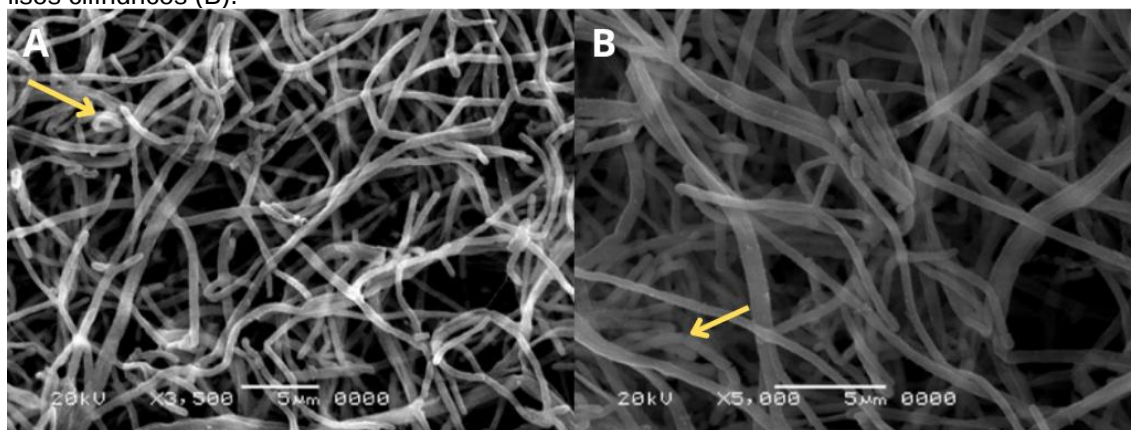
Tabela 1. Características de crescimento da cultura do isolado UFPEDA 3134 após cultivo de 15 dias a 37° C comparado as características apresentadas por *Streptomyces hiroshimensis* DSM 40037^T.

	Crescimento	Coloração de micélio aéreo	Coloração de micélio substratal	Pigmento difusível
UFPEDA 3134				
Ágar triptona-extrato de levedura (ISP-1)	+++	Rosa	Marrom amarelado	Marrom palido
Ágar extrato de levedura- extrato de malte (ISP-2)	+++	Bege Esbranquiçado	Vermelho escuro	Marrom Claro
Ágar aveia (ISP-3)	+++	Rosa pálido à creme	Violeta avermelhado	Vermelho
Ágar amido- sais inorgânicos (ISP-4)	++	Bege	Rosa Claro	Rosa
Ágar glicerol-asparagina (ISP-5)	++	Rosa	Rosa	Nenhum
Ágar peptona, extrato de levedura, ferro (ISP-6)	++	Vinho	Cinza	Preto
Ágar tirosina (ISP-7)	+++	Bege amarronzado	Marrom claro	Nenhum
<i>S. hiroshimensis</i> DSM 40037^T [47]				
Ágar triptona-extrato de levedura (ISP-1)	+++	Branco	Creme	Marrom
Ágar extrato de levedura- extrato de malte (ISP-2)	+++	Branco	Creme	Marrom
Ágar aveia (ISP-3)	+++	Rosa	Rosa	Marrom
Ágar amido- sais inorgânicos (ISP-4)	+++	Branco	Branco	Nenhum
Ágar glicerol-asparagina (ISP-5)	+++	Branco	Rosa	Nenhum
Ágar peptona, extrato de levedura, ferro (ISP-6)	++	Ausente	Cinza	Preto
Ágar tirosina (ISP-7)	+++	Branco	Rosa	Nenhum

Fonte: a autora

As propriedades quimiotaxonômicas e morfológicas do isolado, bem como disposição da cadeia de esporos e morfologia observadas são consistentes com as características do gênero *Streptomyces* sp. Na microscopia eletrônica de varredura foram observados filamentos de hifas que se ramificam em cadeias curtas de esporos, ovais à cilíndricos, de superfície lisa, verticilados (**Figura 2**). As características fenotípicas e bioquímicas apresentadas pelo isolado apresentaram maior similaridade com as espécies *Streptomyces roseifaciens* e *Streptomyces hirosimenses*.

Figura 2. Micrografia eletrônica de varredura da cultura de *Streptomyces* sp. UFPEDA 3134 após 15 dias de cultivo em meio ágar ISP-2, mostrando a presença de hifas ramificadas (A) e esporos lisos cilíndricos (B).



Fonte: a autora

O conhecimento das características fenotípicas e bioquímicas intrínsecas ao micro-organismo fornece dados essenciais para a compreensão e exploração de seus metabólitos. *Streptomyces hirosimensis* é reconhecido como produtor de compostos como pigmentos melanoides, ácidos orgânicos, enzimas alcalinas, fosfolipases e antibióticos macrolídeos poliênicos, os quais possuem amplo espectro de atuação, principalmente contra fungos [7].

As características morfológicas apresentadas pelo isolado UFPEDA 3134 levaram a uma avaliação mais aprofundada do micro-organismo para diferenciação da espécie. Após o sequenciamento genético, foi realizada a homologia e construção da árvore filogenética. A sequência foi depositada no GenBank com o número PV167209.

O isolado demonstrou estar mais estreitamente relacionado a *Streptomyces hirosimensis* apresentando 99,48% de semelhança. As

semelhanças encontradas com as demais espécies variaram entre 98,73% e 99,26%.

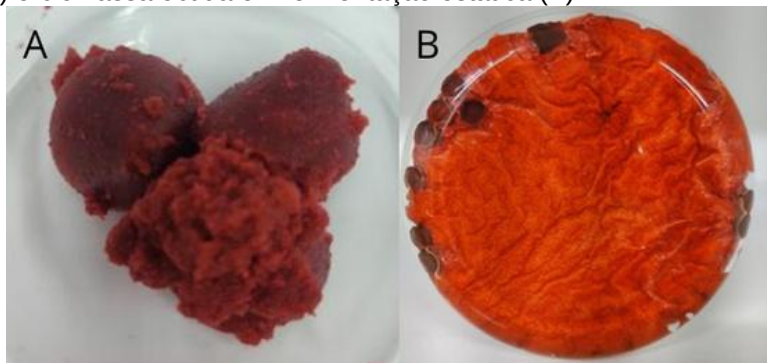
Os resultados encontrados corroboram com os descritos por Van der Aart e colaboradores [47], que observaram a presença de cadeia de esporos verticilados e de superfície lisa como característica de uma estirpe identificada como *Streptomyces roseifaciens*. Além destas características *S. hiroshimensis* DSM 40037^T também apresentou degradação de Xantina, crescimento na fonte de carbono Frutose, mas não em sacarose e crescimento na presença de 3% de Ácido Clorídrico (HCL).

Hatano [48] reportaram uma cepa de *Streptomyces hiroshimensis* 12785^T cujas características apresentadas foram presença de micélio aéreo vermelho, com reverso vermelho-amarelado ou vermelho-amarronzado, produção de melanina, forte degradação de glicose e Inositol, sendo negativas para L-arabinose, D-manitol, Rafinose, L-rhamnose, sucrose e D-xilose.

Produção, extração e quantificação do pigmento

O isolado *S. hiroshimensis* UFPEDA 3134 apresentou biomassa na cor vermelha após o processo fermentativo, tanto em condições estáticas (FE) quanto sob agitação (FA) a 150 rpm (**Figura 3**). O cultivo do micro-organismo sob agitação (150 rpm) demonstrou-se, entretanto, mais vantajoso (42,82 g/L de biomassa) com produção do pigmento em 48h a 37 °C (1,37 mg/g de biomassa), comparado a FE, cuja pigmentação vermelha foi observada após 120h de cultivo com rendimento inferior ou equivalente. A fermentação submersa sob agitação foi, portanto, adotada como melhor ferramenta para a obtenção do pigmento devido ao menor tempo de obtenção. Embora existam diversos protocolos de extração de pigmentos naturais, a adição de etanol absoluto à biomassa de *Streptomyces hiroshimensis* foi suficiente para remover o pigmento contido na biomassa celular. O pigmento obtido apresentou absorção máxima no comprimento de onda ~540 nm.

Figura 3. Biomassa obtida após fermentação com agitação após processo de separação do sobrenadante (A) e biomassa obtida em fermentação estática (B).



Fonte: a autora

Hemeda e colaboradores [26] também obtiveram resultados satisfatórios na extração de pigmentos vermelhos de *Streptomyces* sp LS1 com adição do solvente orgânico Etanol.

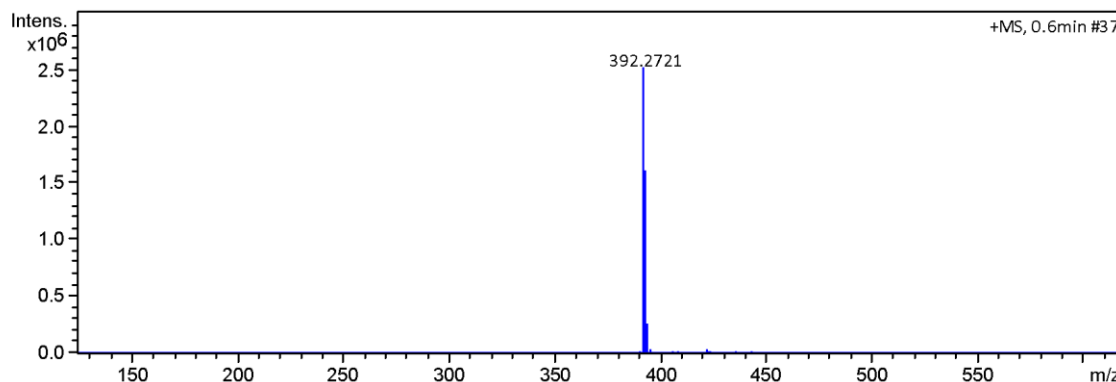
Caracterização Química

Elucidação da Estrutura Química

Na realização da Cromatografia em Camada Delgada (CCD) foi obtido como melhor sistema eluente hexano/acetato de etila 7:3 (v/v) apresentando Rf de 0,40, sendo esse sistema utilizado para purificação da amostra. Os extratos etanólicos bruto (P2) e purificado (P1) foram previamente analisados por CCD, eluídas pela mistura binária $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 7:3 e observadas sob luz ultravioleta (UV). O Rf obtido para P1 (pigmento purificado), foi de 0,50, e o Rf do Extrato Bruto (P2) foi de 0,78, no mesmo sistema. Dessa forma pode-se afirmar que o pigmento purificado é mais polar que o extrato bruto. O pigmento prodigiosina obtido de *Serratia marcescens* D1 por Hazarika *et al*, (2021) [49] apresentou Rf de 0,89, também utilizando o sistema clorofórmio/metanol (9:1).

O espectro de massas (**Figura 4**) obtido por HRMS ESI-TOF apresentou um pico de $m/z = 392,2721$ relativo a um íon $[\text{M}+\text{H}]^+$, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}^+$, cujo valor calculado foi de $m/z = 392,2696$ (erro de -6,8 ppm, mSigma 1). A fórmula molecular observada é compatível com os corantes naturais da classe das prodigininas, como a metacicloprodigiosina e estreptorrubina B (**Figura 5**) [50,51]. Estes compostos diferem apenas na ramificação da cadeia.

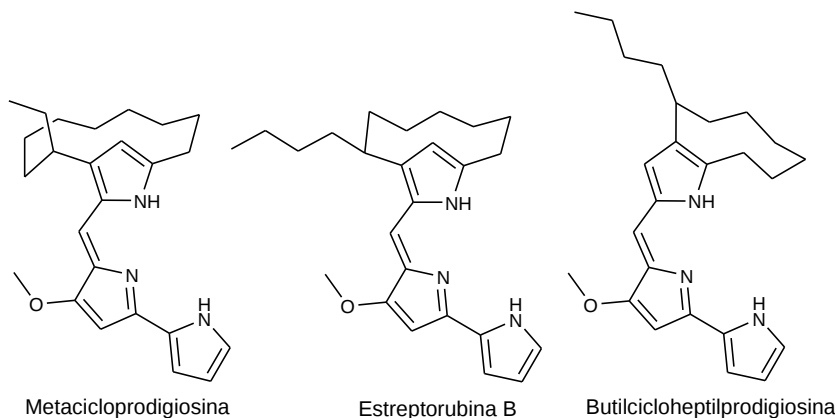
Figura 4. Espectro de massas de alta resolução do corante produzido por *Streptomyces* sp. (obtido em modo positivo).



Fonte: a autora

A metacicloprodigosina foi descoberta por Waaserman e colaboradores em 1969, isolada da bactéria *Streptomyces longisporus ruber* [52]. Enquanto a estreptorrubina B foi reportada por Gerber e colaboradores em 1975, primeiramente como butilcicloheptilprodigosina (**Figura 5**), isolada de uma cepa de *Streptomyces* sp. Y-42 [53]. Porém, após estudos biossintéticos subsequentes, a estrutura da butilcicloheptilprodigosina foi reatribuída a estreptorrubina B, sem grandes explicações [54]. Posteriormente, outros estudos de isolamento e identificação da estreptorrubina B foram conduzidos, como o descrito por Tsao e colaboradores (1985) que extraíram o pigmento da cepa *Streptomyces coelicolor* A3, também atribuído erroneamente a butilcicloheptilprodigosina [55]. A estreptorrubina B também foi isolada de uma cepa de actinomiceto (B 4358) [56], entretanto ainda restavam dúvidas sobre a elucidação das duas estruturas [57, 58]. Somente após estudos teóricos e sintéticos, foram confirmados que a estruturas isoladas de bactérias que eram atribuídas a butilcicloheptilprodigosina eram, na verdade, estreptorrubina B [59, 60, 50, 61].

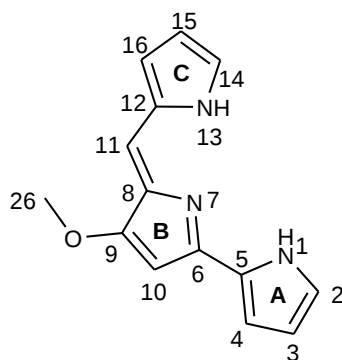
Figura 5. Estrutura molecular da metacicloprodigosina, estreptorrubina B e undecilprodigosina.



Fonte: a autora

Assim, o corante extraído de *Streptomyces* sp. UFPEDA 3134 poderia corresponder a metacicloprodigosina ou a estreptorrubina B (**Figura 5**). Analisando o espectro de RMN de ^1H (Figura Suplementar 1) foram observados 6 sinais na região de hidrogênios olefínicos (6,09 a 7,22 ppm), característicos de um sistema tripirrólico com uma dupla ligação exocíclica conjugada entre dois pirróis (**Figura 6**) [52, 59].

Figura 6. Estrutura molecular do núcleo tripirrólico.

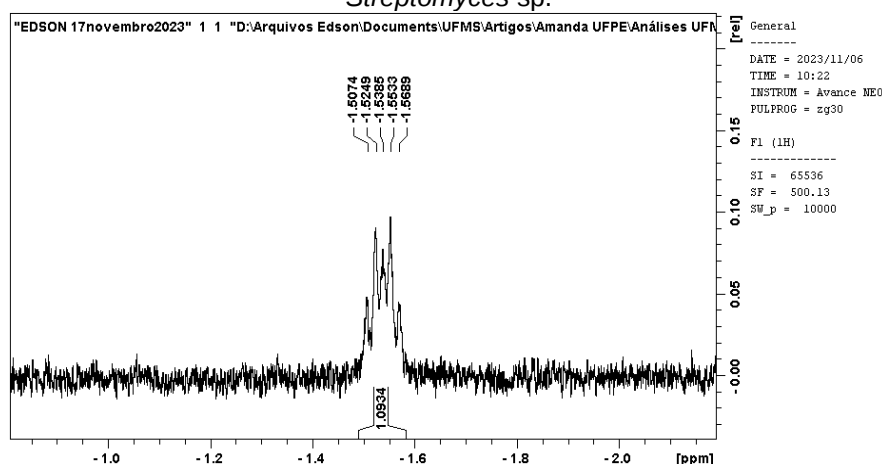


Fonte: a autora

Também foram encontrados um conjunto de sinais em 12,69 ppm, característicos de hidrogênios ligados a átomos de nitrogênio; e um singleto em 4,02 ppm, característico de hidrogênios pertencentes a uma metoxila e sinais pertencentes a hidrogênios alifáticos na região entre 0,80 a 3,33 ppm (**Figura 6**). A princípio os sinais mostrados no espectro de RMN de ^1H da amostra (Figura Suplementar 1) nos levavam a crer que se tratava da metacicloprodigosina (**Figura 5**). Porém um dos sinais em -1,53 ppm com integral para ^1H e multiplicidade de um duplo tripleto (dt) com $J = 14,1$ e $8,7$ Hz (**Figura 7**), nos

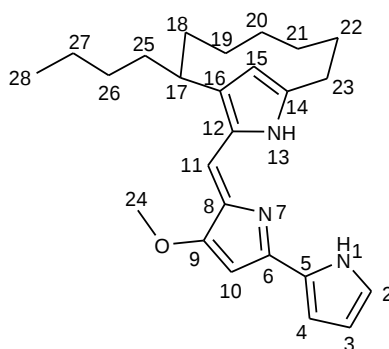
davam informações de que havia um hidrogênio diastereotópico que estava sendo blindado por um efeito anisotrópico de um núcleo pirrol, e tal blindagem só não poderia ocorrer em um anel de 12 membros como no caso da metacicloprodiginosina, pois a tensão do anel seria suficiente para aproximar o H do anel pirrol [50]. No entanto o efeito anisotrópico no H poderia ocorrer em um anel de 10 membros, como no caso da estreptorrubina B conforme sugerido por Hu *et al*, (2011) [50]. (**Figura 8**).

Figura 7. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do corante produzido por *Streptomyces* sp.



Fonte: a autora

Figura 8. Estrutura molecular da estreptorrubina B



Fonte: a autora

Esse efeito foi confirmado pela apresentação da estrutura de raio-X da estreptorrubina B (Figura Suplementar 3), que mostra um dos hidrogênios diastereotópicos acima do anel pirrólico C, permitindo um efeito anisotrópico a este H [50; 62]. Os sinais de RMN de ^1H (**Figura 7**, Figura Suplementar 1, 4-8) e de ^{13}C (Figura Suplementar 9-11) foram atribuídos de acordo com a **Tabela 2**, tomando como referência estudos realizados por Mo, *et al* (2008)[63], que reportaram sinais para a estreptorrubina B neutra e estreptorrubina B protonada no N na posição 7 do anel B. Os sinais da estreptorrubina B encontrados em

nossos experimentos corroboraram com a forma protonada, justificando o aparecimento de três sinais com integral para 3H em 12,60, 12,69 e 12,72 ppm, atribuídos respectivamente aos grupos NH nas posições 1, 7 e 13, por conta das correlações observadas no espectro de COSY ^1H - ^1H (Figura Suplementar 27).

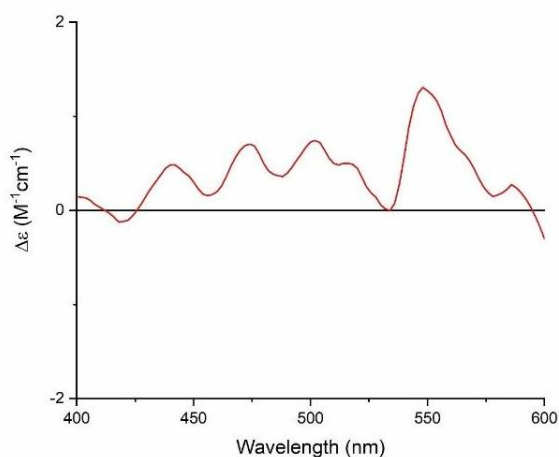
A atribuição dos dados de RMN foi confirmada por meio dos experimentos bidimensionais de HSQC (Figura Suplementar 12-16), HMBC (Figura Suplementar 17-21), COSY ^1H - ^1H (Figura Suplementar 22-27) e tomando como referência os dados de Mo, *et al* (2008) [63]. Além disso, a maioria dos sinais dos hidrogênios metilênicos (CH_2) se apresentaram como diastereotópicos, por conta da presença de um centro estereogênico na posição 17. Destaca-se ainda a atribuição do sinal referente aos hidrogênios H20, onde um deles sofre o efeito anisotrópico do cone de proteção do anel pirrólico C e aparece em -1,53 ppm enquanto o outro está em 1,14 ppm e ambos exibem um acoplamento 1J com o carbono em 27,7 ppm (Figura Suplementar 15).

Tabela 2. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) e ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

Posição	Grupo	Estreptorrubina B <i>Streptomyces</i> sp.		Estreptorrubina B de <i>Streptomyces coelicolor</i> (Mo et al., 2008)	
		δ_{H} , multiplicidade (integral, J)	δ_{C}	δ_{H} , multiplicidade (J)	δ_{C}
1	NH	12,60, sl (1H)	-	12,59	-
2	CH	7,22, m (1H)	126,6	7,22	126,8
3	CH	6,34, t (1H, 3,0 Hz)	111,5	6,34	111,7
4	CH	6,90, d (1H, 3,0 Hz)	116,5	6,90	116,7
5	C	-	122,3	-	122,5
6	C	-	147,0	-	147,2
7	^+NH	12,69, sl (1H)	-	12,70	-
8	C	-	120,2	-	120,4
9	C	-	165,3	-	165,5
10	CH	6,09, s (1H)	92,6	6,10	92,8
11	CH	7,12, s (1H)	112,5	7,12	112,7
12	C	-	125,0	-	125,2
13	NH	12,72, sl (1H)	-	12,72	-
14	C	-	154,6	-	154,8
15	CH	6,51, s (1H)	116,7	6,51	116,9
16	C	-	150,5	-	150,7
17	CH	3,09, m	37,4	3,10	37,6
18	CH_2	1,15, m; 1,73, m	38,8	1,14; 1,72	39,0
19	CH_2	0,93, m; 1,55, m	25,4	0,95; 1,57	25,6
20	CH_2	-1,53, dt (1H); 1,14 (m)	27,7	-1,54; 1,16	27,9
21	CH_2	0,80, m; 1,77, m	29,1	0,80; 1,78	29,2
22	CH_2	1,38, m; 1,91, m	31,6	1,39; 1,93	31,8
23	CH_2	2,54, m; 3,33, m	29,9	2,34; 3,34	30,1
24	OCH_3	4,02, s (3H)	58,6	4,03	58,8
25	CH_2	1,57, m; 1,86, m	30,9	1,57; 1,86	31,1
26	CH_2	1,38, m	30,4	1,38	30,6
27	CH_2	1,28, m; 1,38, m	22,9	1,29; 1,38	22,8
28	CH_3	0,88, m; 0,92, t (6,8 Hz)	14,1	0,89	14,3

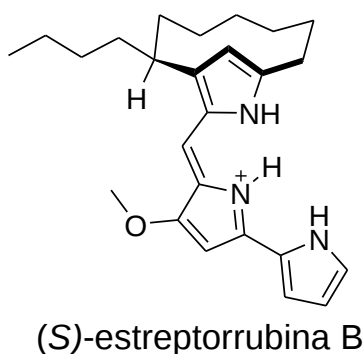
A configuração absoluta da estreptorrubina B foi determinada pela comparação do espectro de DCE obtido com os publicados por Hu, *et al* (2011) [50]. De acordo com os autores, tanto o composto sintético quanto o natural exibiram um efeito Cotton positivo característico em torno de 550 nm, indicando uma configuração absoluta *R/S* [50]. Esse resultado corrobora com o espectro de DCE obtido em nosso grupo, que apresentou um efeito Cotton positivo também na região de 550 nm (**Figura 9**), indicando que a estreptorrubina B isolada neste trabalho apresenta uma configuração absoluta *S*. Assim, propomos a estrutura do corante extraído de *Streptomyces hiroshimensis* UFPEDA 3134 como (*S*)-estreptorrubina B (**Figura 10**).

Figura 9. Espectro de dicroísmo circular (DCE) da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces hiroshimensis* UFPEDA 3134.



Fonte: a autora

Figura 10. Estrutura molecular da (*S*)-estreptorrubina B produzida por *Streptomyces hiroshimensis* UFPEDA 3134.



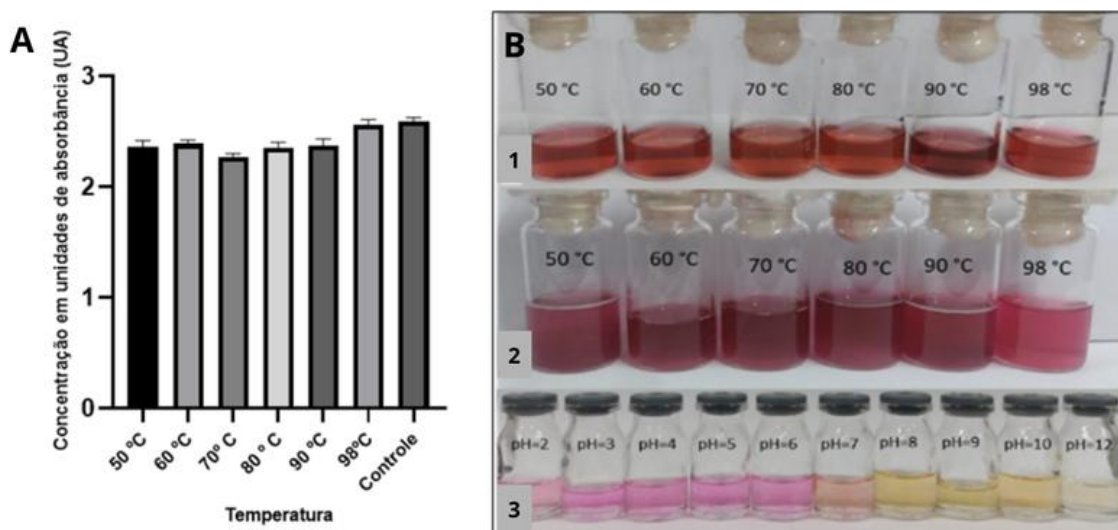
Até o momento, essa prodiginina apresenta poucos relatos na literatura e suas propriedades são ainda subexploradas, sendo a produção por *Streptomyces*

hiroshimensis documentada apenas superficialmente [64]. Dessa forma estudos sobre suas propriedades e possíveis aplicações são fundamentais para a compreensão do potencial biotecnológico desse biopigmento.

AVALIAÇÃO DA SOLUBILIDADE E ESTABILIDADE TÉRMICA E A MODIFICAÇÕES DE pH

O pigmento estreptorrubina B produzido por *S. hiroshimensis* UFPEDA 3134, apresenta solubilidade em etanol, metanol, hexano, acetato de Etila e clorofórmio, com baixa solubilidade em água filtrada. O pigmento apresentou estabilidade à temperatura nas condições investigadas (50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C, 90 °C e 98 °C), exibindo uma taxa residual de 87% (70°C) e 98,9% (98°C), sendo a degradação máxima observada equivalente a 13% em 70°C em relação ao controle (**Figura 11**). O pigmento demonstrou ainda sensibilidade a alterações de pH. Apresentando coloração rosa em pH ácido (2 a 6), e coloração amarela em pH alcalino (8 a 12).

Figura 11. (A) Efeito da temperatura na estabilidade do pigmento vermelho produzido por *Streptomyces hiroshimensis* UFPEDA 3134. (B) Estabilidade do pigmento em temperaturas entre 50 e 98 °C dissolvido em etanol (1), estabilidade do pigmento em temperaturas entre 50 e 98 °C dissolvido em tampão fosfato de sódio (2) e estabilidade a variações de pH (3).



Fonte: a autora (2023)

O comportamento apresentado pelo pigmento é compatível com o observado em outros pigmentos naturais como prodigininas e antocianinas. Pigmentos de natureza iônica [65] que podem ser utilizados como indicativo de alterações bruscas

neste parâmetro.

Um pigmento microbiano, para ser utilizado em escala industrial, deve ser estável a fatores como luz, pH, temperatura e radiação ultravioleta (UV) [66, 67]. A estabilidade a temperatura é uma propriedade desejável a pigmentos de modo geral (1), haja visto que favorece a sua utilização nos mais diversos processos industriais. O comportamento exibido pelo pigmento isolado de *S. hiroshimensis* UFPEDA 3134 demonstra uma elevada possibilidade de aplicação deste em produtos comerciais, especialmente nas indústrias têxtil e alimentícia, uma vez que o processamento térmico é um dos principais métodos de preservação (eliminação de micro-organismos) e fixação adotado [68, 29]. A preservação da coloração nas diferentes temperaturas (Figura 12), corrobora com os valores observados na constante de degradação térmica demonstrando variação mínima entre as amostras.

Em estudo do tingimento de tecido poliéster utilizando a piocianina extraída de *Pseudomonas aeruginosa*, Govindaraj, *et al* (2021) [69] verificaram a mudança de coloração do pigmento de azul para amarelo após tratamento térmico a 130 °C, comprovada pela pirólise, degradação do pigmento. Na maior temperatura avaliada (98 °C) o aumento da concentração do pigmento deve estar relacionado a evaporação do solvente, resultando em uma maior concentração da amostra. Diversos fatores químicos, físicos e ambientais podem afetar a estabilidade de um pigmento a saber: pH, presença de íons metálicos, exposição à luz, altas temperaturas, processos oxidativos e enzimas do produto [70].

Em estudo conduzido por Meng-Xi *et. al.* (2021) [71], o pigmento vermelho metacicloprodigiosina também exibiu alterações com a mudança do pH, sendo vermelho em pH ácido (3) e amarelo ou laranja em pH alcalino (9).

Adicionalmente, o fato de o micro-organismo ter sido isolado da rizosfera da Caatinga pode estar relacionado ao desenvolvimento de metabólitos com maior estabilidade térmica, haja visto que actinobactérias isoladas de solos temperados podem apresentar tolerância a elevadas temperaturas, uma vez que nesses locais, geralmente, a temperatura ambiente ultrapassa os 40 °C [72].

Pigmentos verde e amarelo produzidos por *Streptomyces tanashiensis* BYF-112 apresentaram forte estabilidade a temperatura exibindo uma taxa residual de 89,44 a 98,22% quando expostos a temperaturas de 40, 60, 80 e 100 °C por 2h na concentração de 250 µg/ml, indicando a possibilidade do seu uso na indústria alimentícia [73].

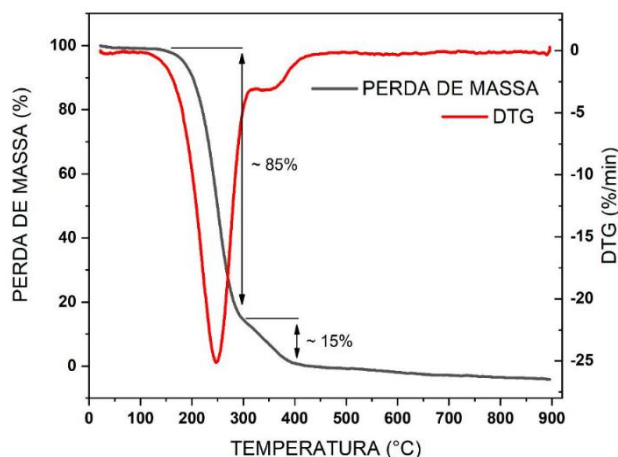
A solubilidade do pigmento em componentes majoritariamente polares não é um fator limitante para a utilização do composto, haja visto que estudos têm demonstrado a possibilidade de adoção de estratégias como o encapsulamento de pigmentos, utilizado com a prodigiosina, por exemplo, sem que haja perda de seus efeitos [74, 75].

Análise Termogravimétrica (TGA)

A estabilidade térmica do pigmento também foi avaliada por meio de análises termogravimétricas. Os resultados demonstraram que o pigmento purificado suporta até cerca de 400 °C, havendo a ocorrência de dois eventos de degradação que se sobrepõem durante a exposição da amostra a elevação da temperatura. No primeiro evento a amostra perde aproximadamente 85% da massa, e no segundo evento os 15% restantes. Para avaliar e estimar o início e término dos eventos sobrepostos, foi utilizada a deconvolução por meio da função de Gauss (**Figura 13**).

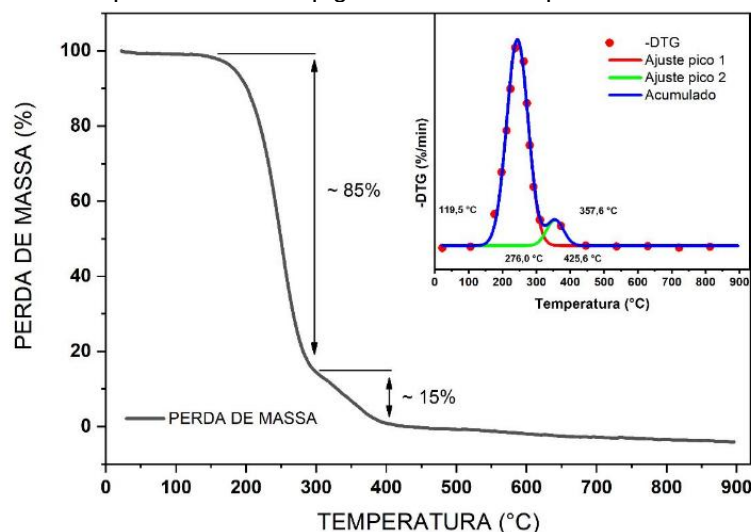
Dessa forma, verifica-se que o primeiro evento se inicia em aproximadamente 119,5 °C com término em 357 °C e o segundo evento tem início na temperatura aproximada de 276° C e término a aproximadamente 425°C onde a amostra é totalmente degradada (**Figura 13**). Os picos evidenciados durante os eventos são exotérmicos.

Figura 12. Gráfico da degradação térmica da amostra do pigmento vermelho puro. Sendo DTG: Termogravimetria Derivada.



Fonte: a autora

Figura 13. Gráfico da relação entre a perda da massa e os eventos de degradação apresentados pela amostra do pigmento vermelho purificado.



Fonte: autora

A maioria dos pigmentos naturais apresenta menor estabilidade e, portanto, maior sensibilidade quando exposto a fatores ambientais como temperatura, pH e oxidação, se comparados aos corantes artificiais [29]. Dessa forma, o comportamento exibido pela estreptorrubina B oferece vantagens quanto a sua estabilidade térmica.

Em estudos realizados por Sumathi e colaboradores (2014) [76], a prodigiosina apresentou perda de 18,68% de peso na faixa de temperatura entre 180 e 320°C sendo atribuída a desestabilização nas ligações de sua molécula. Rudrappa e colaboradores [72] ao observarem a estabilidade térmica do extrato de melanina, também verificaram dois estágios de degradação térmica, sendo o primeiro a 285,4 °C, perdendo 25% da massa. Na temperatura de 692,5 °C houve um aumento de 50% na perda de massa e a 1000 °C a massa foi reduzida para 15%.

Alguns estudos relacionam os eventos de degradação da melanina com a destruição de ligações não covalentes entre as camadas estruturais do pigmento, provavelmente relacionadas aos grupos pirrol e indol que compõem o pigmento [72].

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO PIGMENTO

O pigmento estreptorrubina B produzido por *S. hiroshimensis* UFPEDA 3134 demonstrou atividade antimicrobiana frente aos isolados *S. aureus* UFPEDA 1056B (250 µg/mL) e *S. aureus* UFPEDA 1040 (125 µg/mL) resistentes a meticilina (MRSA). A fração do pigmento purificado não demonstrou atividade antimicrobiana para os micro-organismos testados, conforme demonstrado nas tabelas 3 e 4. O pigmento,

entretanto, não demonstrou atividade nas espécies de leveduras avaliadas.

Tabela 3. Ação antimicrobiana do extrato bruto e da fração purificada A do pigmento extraído de *Streptomyces* sp. UFPEDA 3134.

Micro-organismo	Extrato Bruto		Fração Purificada A	
	CMI (µg/mL)	CMB (µg/mL)	CMI (µg/mL)	CMB (µg/mL)
<i>S. aureus</i> UFPEDA 1056B	250	250	> 1000	> 1000
<i>S. aureus</i> UFPEDA 1045B	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>S. aureus</i> UFPEDA 1048B	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>S. aureus</i> UFPEDA 1049B	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>S. aureus</i> UFPEDA 1040B	125	125	> 1000	> 1000
<i>S. aureus</i> UFPEDA 1055B	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000

Tabela 4. Ação antifúngica do extrato bruto e da fração purificada do pigmento extraído de *Streptomyces* sp. UFPEDA 3134.

Micro-organismo	Extrato Bruto		Fração Purificada A	
	CMI (µg/mL)	CMB (µg/mL)	CMI (µg/mL)	CMB (µg/mL)
<i>C. guilliermondii</i> URM 5717	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>C. parapsilosis</i> URM 6951	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000

Staphylococcus aureus e espécies do gênero *Candida* são patógenos de importância clínica e, portanto, alvos de diversas pesquisas [77, 78]. A capacidade antimicrobiana de pigmentos prodigininas é atribuída a vários mecanismos como a indução de autolisinas (em espécies de bacilos), produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) e radicais livres, redução de permeabilidade de membrana, interferência na captação de íons, promoção de danos à parede celular ocasionando o vazamento do conteúdo citoplasmático, despolarização da membrana plasmática ou ainda modulação da bomba de efluxo [79 – 81]. Essas biomoléculas podem ainda interagir com outros compostos aumentando seu poder biocida [82].

No entanto, conforme dados da literatura, tais habilidades estão diretamente relacionadas a estrutura química e afinidades da molécula. Dessa forma, a ausência

de atividade antimicrobiana na amostra purificada pode estar relacionada a perda de ligante presente no extrato bruto ou ainda a mecanismos de defesa das células bacterianas avaliadas. Alguns mecanismos podem contribuir para a resistência a fármacos pelas bactérias, a exemplo da redução da permeabilidade de membrana e sistemas de efluxo. Reduzir a permeabilidade da membrana afeta o metabolismo bacteriano, reduzindo, também, a absorção do fármaco, tendo como consequência a resistência [83].

Pelo sistema de efluxo ativo as drogas podem ser bombeadas para fora da célula. Esse sistema desempenha papel importante na resistência a múltiplas drogas, sendo também encontrado em bactérias sensíveis [84]. Em *S. aureus*, três sistemas de efluxo são reportados: QacA, NorA e Smr [85, 86]. Além disso, a produção de pigmentos verificada em *S. aureus* e algumas espécies de *Candida* também podem contribuir para a proteção destes micro-organismos contra substâncias tóxicas. *S. aureus* produz um pigmento carotenoide de coloração dourada denominado estafiloxantina (STX) que tem sido relacionado a efeitos protetores dessas células contra espécies reativas de oxigênio (EROs), ao passo que aumentam a virulência do micro-organismo [87, 88]. A produção de riboflavina (pigmento amarelo) por *C. guilliermondii*, pode apresentar efeito protetivo a estes micro-organismos [89]. Assim, da mesma forma que pigmentos podem ser utilizados como novas substâncias antimicrobianas, estes também podem ter sua ação dificultada por outros pigmentos produzidos pelo micro-organismo alvo. Assim sendo, o comportamento apresentado pela fração purificada do pigmento pode ter sido influenciado, também, pela produção de pigmentos intrínsecos aos micro-organismos avaliados.

Em contrapartida, em estudo realizado por Suzuki, *et al* (2015) [16] a estreptorrubina B apresentou atividade antimicrobiana frente a isolados de MRSA N315 em concentração igual ou superior a 32 µg/mL. Os autores verificaram ação antibiofilme correspondente a uma redução de 73% na concentração de 1 µg/mL. Mesmo em baixas concentrações (0,17 µg/mL) a estreptorrubina B foi capaz de reduzir a formação de biofilme de MRSA para menos de 50%, com IC₅₀ de 0,22 µg/mL, demonstrando forte efeito inibidor [16]. Segundo os autores, a ação antimicrobiana da estreptorrubina B não foi tão forte frente às células de vida livre quando comparada à ação contra biofilme. Este comportamento pode estar relacionado à capacidade da prodiginina de promover a clivagem oxidativa do DNA, quelar metais, ou ainda a capacidade de modulação do pH e perturbação da integridade bacteriana pelo

desacoplamento de H^+ / Cl^- no interior das células, interferindo na respiração celular e na síntese de proteínas [90].

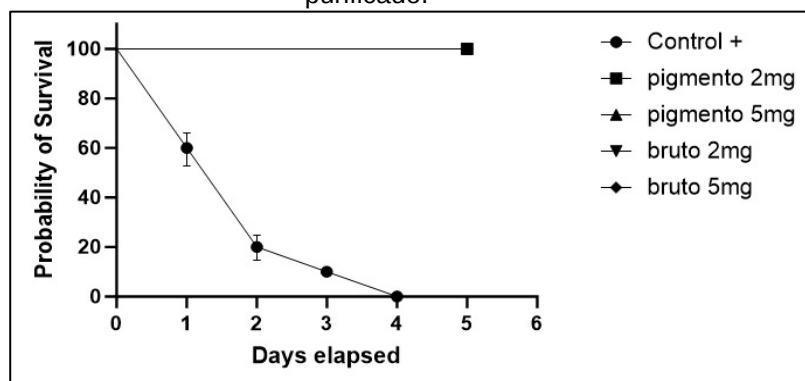
Karpiński e Adamczak [91] em avaliação da atividade antibacteriana de fucoxantina, um pigmento alaranjado, frente a *S. aureus* verificaram uma concentração mínima inibitória (CMI) de 125 $\mu\text{g/mL}$, resultado semelhante ao verificado para o pigmento produzido por *Streptomyces hiroshimensis* UFPEDA 3134. Pigmento vermelho produzido por *Streptomyces* sp. LS1, apresentou atividade antimicrobiana nas concentrações de 0,2 mg/mL, 0,3 mg/mL e 0,4 mg/mL contra *S. aureus*, e nas concentrações de 0,1 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0,3 mg/mL e 0,4 mg/mL inibiu o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* [26]. Outras prodigininas, como a heptilprodiginosina e cicloheptilprodiginosina apresentaram atividade antimicrobiana semelhante frente a *S. aureus* CMCC (B) 26003^T e *B. subtilis* MCCC 1A00693^T em concentrações de 12,5, 25, 50 e 100 μM . A cicloheptilprodiginosina apresentou ainda atividade frente a *C. albicans* ATCC 10231 [23]. Do mesmo modo, metacicloprodiginosina, obtida a partir de *Streptomyces spectabilis* também mostrou eficácia frente a *S. aureus* (com MIC de 0,25 $\mu\text{g/mL}$) e efeito moderado em *Candida albicans* (com MIC de 2 $\mu\text{g/mL}$) [71].

TESTES DE TOXICIDADE EM *Galleria mellonella*, *Caenorhabditis elegans* e *Biomphalaria glabrata*

O pigmento estreptorrubina B não apresentou toxicidade aguda frente às larvas de *Galleria mellonella* nas concentrações testadas. As concentrações de 5 mg/mL e 2 mg/mL do pigmento bruto e da fração purificada não induziram a mortalidade nem alterações no comportamento das larvas durante o ensaio de sobrevivência (**Figura 14**). Do mesmo modo, as concentrações testadas não induziram ativação da melanização imunológica nas larvas. Sendo observado um comportamento semelhante ao controle na concentração de 2 mg/mL. A concentração de 5 mg/mL, entretanto, apresentou leve aumento da melanização (**Figura 15**), contudo, deve-se considerar a possibilidade da coloração própria do pigmento resultar na detecção de partículas escuras e estar relacionada ao aumento da pigmentação observada nas larvas. Haja visto que durante a administração do pigmento na hemocela da larva, esta teve seu corpo colorido. Entretanto, a ausência de formação de nódulos ao longo do corpo destes organismos contribui para a avaliação dos resultados. Dessa forma, pode-se inferir que o pigmento não apresentou danos à *G. mellonella* quando

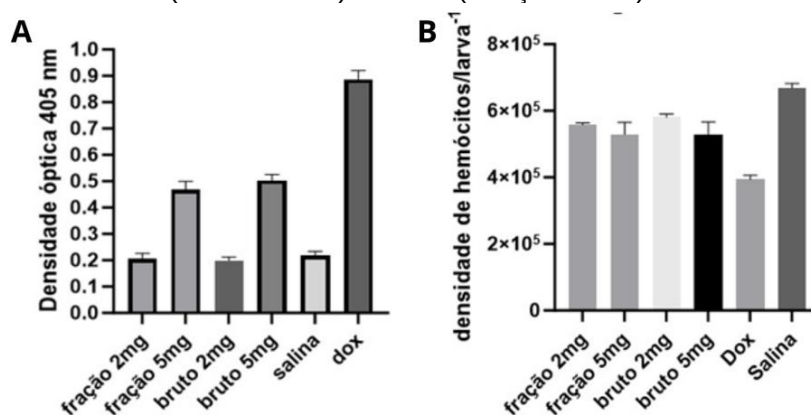
comparado ao controle com doxorrubicina, não apresentando toxicidade nas contrações testadas.

Figura 14. Curva de sobrevivência das larvas de *Galleria mellonella* expostas ao pigmento bruto e purificado.



Fonte: a autora

Figura 15. Indução de melanização pelo pigmento: extrato bruto e purificado do pigmento estreptorrubina B em *Galleria mellonella* (A) e contagem de hemócitos de *Galleria mellonella* exposta ao pigmento (B). Sendo: DOX (doxorrubicina) e Salina (solução salina).



Fonte: a autora

A melanização ocorre após a ativação da cascata de profenoloxidase ativada por proteases serinas após a entrada de um agente invasor nas larvas e serve também como indicador de viabilidade larval. Do mesmo modo as alterações na densidade de hemócitos podem servir para determinar a resposta larval a agentes patogênicos ou químicos, servindo como um sistema de rastreo a compostos tóxicos [92]. Concentrações que resultem em 100% de sobrevivência, são classificadas como não-tóxicas [93]. A ausência de danos nas larvas após a administração do pigmento pode estar relacionada a presença de compostos fenólicos em sua composição, os quais possuem atividades antioxidante e anti-inflamatória, que podem ter contribuído para preservação celular.

No modelo experimental *Caenorhabditis elegans*, o extrato bruto do pigmento apresentou LC₅₀ de 1,089 (0,9234 a 1,275) mg/mL, enquanto a fração não apresentou

toxicidade para os nematoides, com $LC_{50} > 10$ mg/mL. A estreptorrubina B também não apresentou toxicidade aguda para *B. glabrata* em concentrações de até 0,2 mg/mL, não sendo observadas diferenças significativas em relação ao controle. Entretanto, a concentração de 0,4 mg/mL induziu mortalidade de 100% dos animais, mortalidade significativa em relação ao controle.

Ensaio realizado com prodigininas têm demonstrado que o impacto das prodigininas nos estágios iniciais de *C. elegans* é dependente da estrutura e da concentração destas moléculas, sendo os derivados cíclicos, geralmente, mais tóxicos que os compostos lineares [94]. Contudo, não há registros da avaliação da toxicidade de estreptorrubina B nesses sistemas modelos. Lazic e colaboradores [95] observaram que concentrações de até 50 µg/mL de prodigiosina não apresentaram toxicidade para *C. elegans*, exibindo 100% de sobrevivência, não sendo, portanto, nematocida, sugerindo seu uso seguro em organismos eucarióticos.

A avaliação da toxicidade de pigmentos produzidos por micro-organismos é essencial para auxiliar na investigação de possíveis aplicações, modelos alternativos como *G. mellonella* e *C. elegans* têm sido reportados para avaliação da toxicidade desses compostos. Devido a sua forte correlação com outros modelos *in vivo* como o ensaio utilizando fibroblastos embrionários de camundongo e queratinócitos da pele humana, a utilização do modelo *G. mellonella* em ensaios de citotoxicidade pode evitar que compostos com baixa toxicidade sejam avaliados como tóxicos e prossigam para o modelo utilizando mamíferos [93, 96]. Devido às suas características *G. mellonella* pode ser utilizada como um modelo pré-clínico *in vivo* eficaz e rápido para determinar a citotoxicidade dos pigmentos [97]. Além das prodigininas pigmentos microbianos como a oosporeina também tiveram sua toxicidade avaliada em *G. mellonella*.

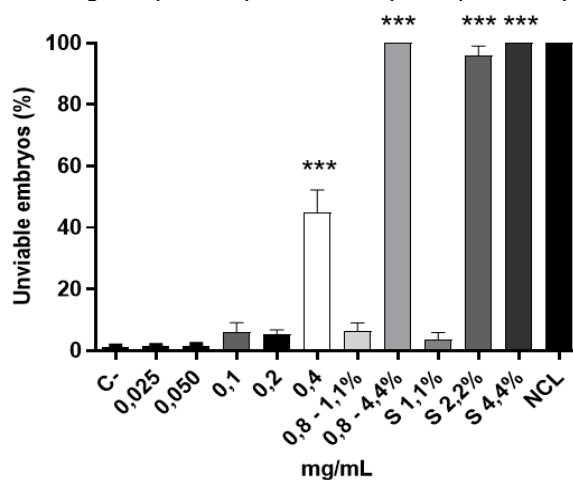
Em estudo conduzido por Mc Namara e colaboradores [98] com a oosporeina, pigmento vermelho extraído de *Beauveria caledonica*, observou-se que as concentrações de 1,25 mg/mL e 125 µg/mL não ocasionaram a morte de *G. mellonella*, após duas semanas de exposição.

Ensaio de Embriotoxicidade

O efeito do pigmento em embriões de *Biomphalaria glabrata* após 24h de exposição é demonstrado na **figura 16**. As concentrações de 0,2 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,05 mg/mL e 0,025 mg/mL não apresentaram toxicidade para os embriões, sendo verificada uma taxa de eclosão superior a 95%. Contudo, concentrações de 0,4 mg/mL

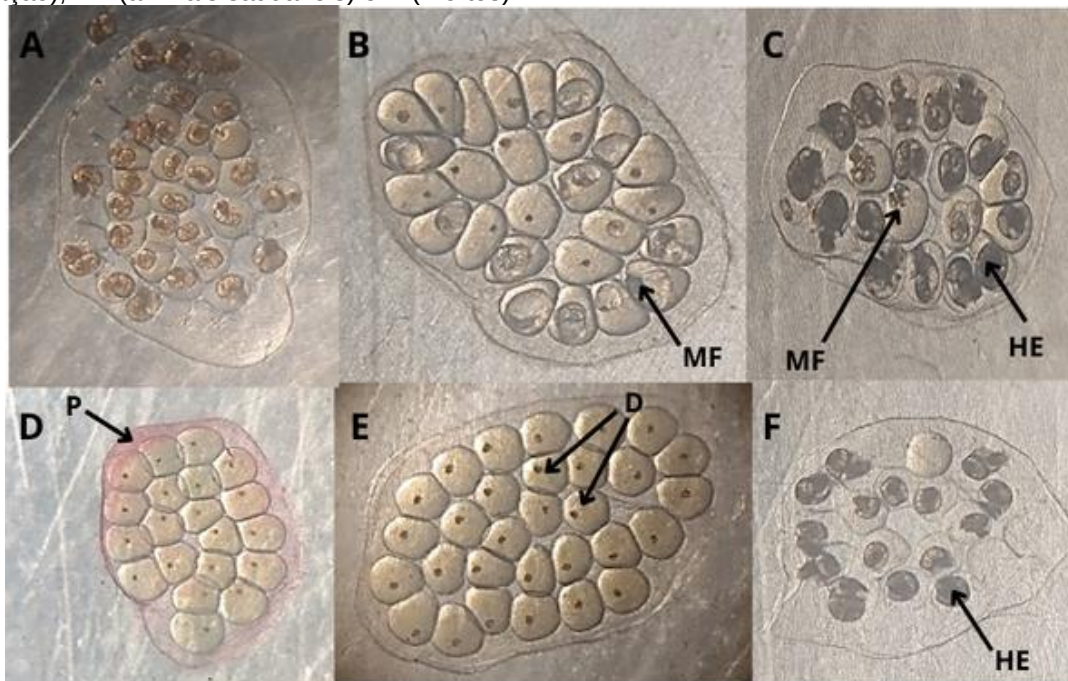
e 0,8 mg/mL demonstraram efeitos embriotóxicos que podem estar associados ao percentual do etanol envolvido na solução (2,2% e 4,4%, respectivamente) (**Figura 17**). Na concentração de 0,4 mg/mL o número de embriões inviáveis foi de aproximadamente 45%, enquanto em 0,8 mg/mL do pigmento o número de embriões inviáveis foi de 100%. As análises realizadas com o solvente revelaram 100% de inviabilidade dos embriões na presença de 4,4% de etanol e 96% na concentração de 2,2% de etanol. Entretanto, na concentração de 1,1% foi observada 96,4% de eclosão.

Figura 16. Efeito do pigmento estreptorrubina B em embriões de *Biomphalaria glabrata* após 24h de exposição. Sendo C- (controle negativo), NCL (niclosamida) e S (solvente).



Fonte: autora

Figura 17. Principais alterações observadas no desenvolvimento dos embriões de *Biomphalaria glabrata* após exposição a concentrações de estreptorrubina B. Onde: A (controle negativo) e B, C, D, E e F (amostras tratadas com diferentes concentrações do pigmento). Sendo: P (pigmento); MF (má-formação); HE (animais saudáveis) e D (mortos).



Fonte: a autora

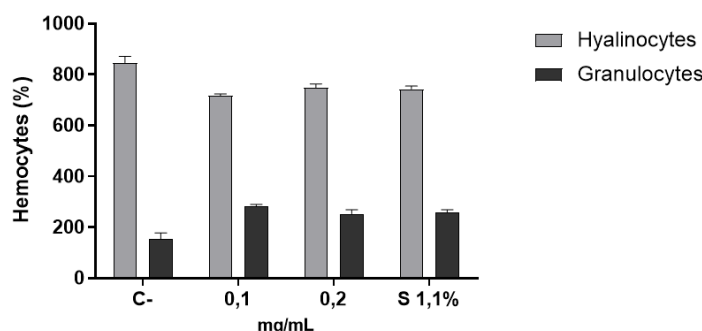
A embriotoxicidade exibida pelo pigmento nas concentrações mais elevadas (0,4 mg/mL e 0,8 mg/mL) pode estar relacionada a interação da molécula com o solvente utilizado, neste caso o etanol, haja visto que concentrações de 2,2 e 4,4% do solvente também induziram alterações no desenvolvimento dos embriões. A embriotoxicidade de outras prodigininas também já foi avaliada. Lazic e colaboradores [95] verificaram a embriotoxicidade da prodigiosina obtida de *Serratia marcescens* e derivados bromídricos em embriões de peixe zebra. A prodigiosina apresentou toxicidade para 100% dos embriões nas concentrações de 10 a 70 µg/mL. E em concentrações de 2,5 µg/mL e 0,1 µg/mL os embriões se desenvolveram, porém como alterações genéticas e morfológicas, como microcefalia. Entretanto o derivado bromídrico PG-Br₂ não apresentou efeitos embriotoxicos ou teratogênicos a 10 e 20 µg/mL, sugerindo que a modificação estrutural da prodigiosina por halogenação pode apresentar benefícios. A embriotoxicidade apresentada por estes biopigmentos pode estar relacionada ao desequilíbrio do processo de oxirredução e por consequência distúrbios de funções genéticas.

Ensaio de citotoxicidade em hemócitos de *Biomphalaria glabrata* adultos

Após a exposição dos moluscos às concentrações do pigmento, foi avaliada a morfologia celular dos hemócitos. Nos grupos submetidos a concentrações de até 0,2 mg/mL do pigmento não foram observadas alterações significativas na proporção das células normais (hialinócitos e granulócitos) em relação ao controle (**Figura 18**). Nas amostras analisadas foram observadas poucas alterações celulares (abaixo de 5%) como binucleação, micronúcleo e apoptose quando comparadas ao grupo controle. As amostras expostas a concentração de 0,2mg/mL apresentaram 3% de frequência de micronúcleo (MN), enquanto na de 0,1mg/mL, a frequência evidenciada foi de 1%. Quanto a indução de células binucleadas (BN) as amostras apresentaram valores inferiores a 4% (1,6% e 2,6%). Também foi verificada que a frequência de apoptose (AP) nas células das amostras tratadas com pigmento foi inferior a 4%, sendo observada frequência de 2% nas amostras de 0,2 mg/mL e 3% nas amostras de 0,1 mg/mL. De modo geral, o pigmento não induziu alterações significativas nos hemócitos em relação ao grupo controle negativo. O controle positivo Colcemida 0,015 mg/L apresentou frequência de MN de 4,5%, BN 11% e AP 150%. As amostras induziram cerca de 6,6% de alterações nos hemócitos, e o solvente aproximadamente 4,3% (**Figura 19**). As concentrações de 0,4 e 0,8 mg/mL demonstraram-se altamente

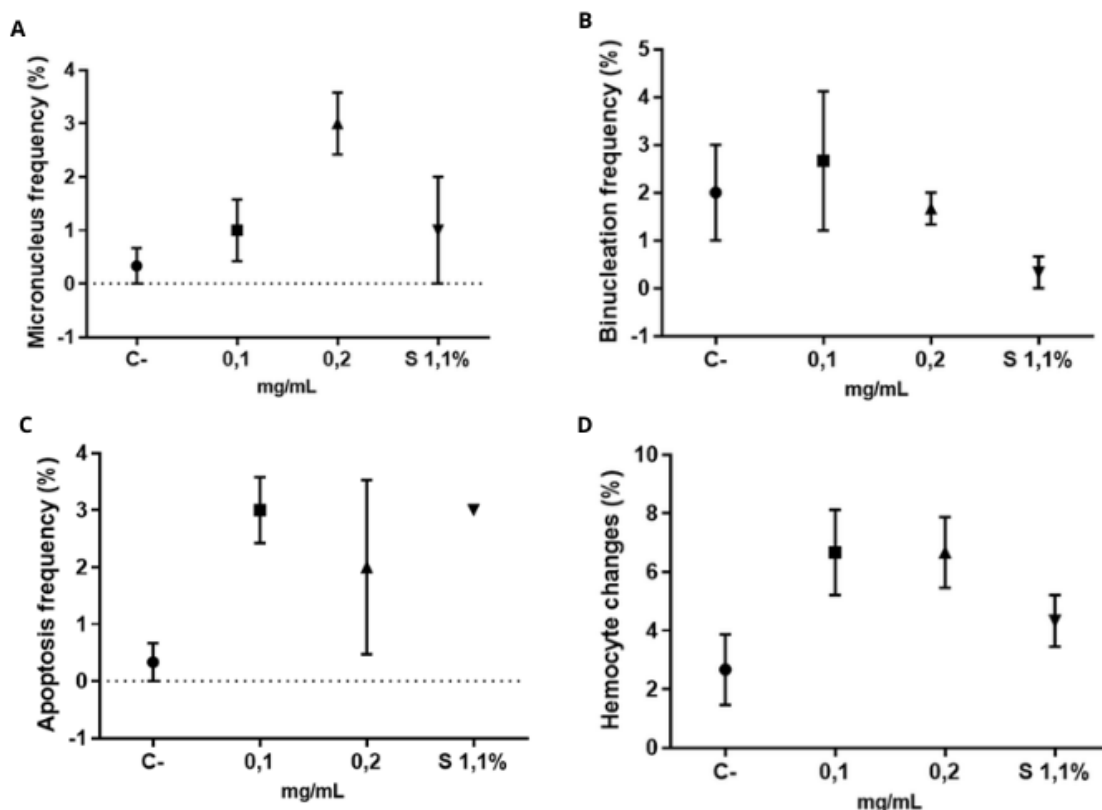
toxicas apresentando 100% de mortalidade para os animais.

Figura 18. Análise do percentual de hialinócitos e granulócitos presentes na hemolinfa de *Biomphalaria glabrata* após exposição as concentrações de 0,2 e 0,1 mg/mL do pigmento estreptorrubina B produzida por *Streptomyces hiroshimensis*. Sendo: C- (controle negativo) e S 1,1% (controle do solvente – etanol)



Fonte: a autora

Figura 19. Análise das alterações observadas em hemócitos de *Biomphalaria glabrata* após exposição a diferentes concentrações de estreptorrubina B. (A) Frequência de micronúcleos; (B) Frequência de binucleação; (C) Frequência de apoptose; (D) Alterações em hemócitos, onde C- é o controle negativo e S 1,1% é o controle do solvente.



Fonte: a autora

A hemolinfa predominantemente composta por células normais e as poucas alterações observadas na morfologia celular nos hemócitos de *B. glabrata* após a exposição a estreptorrubina B, sugerem que este composto não apresenta toxicidade

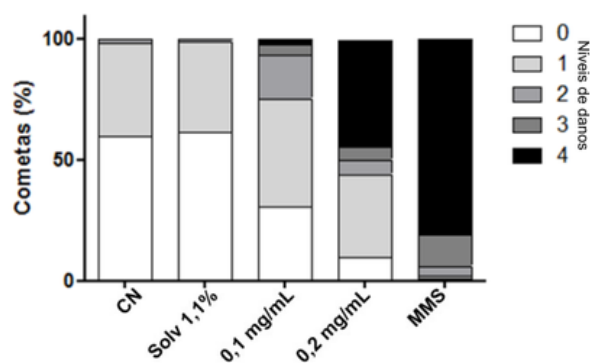
para células normais nas concentrações de 0,1 mg/mL e 0,2 mg/mL. Dessa forma acredita-se que a toxicidade do pigmento seja dose dependente. De acordo com a ISO 10993-5 substâncias que apresentam toxicidade causam a morte de mais de 50% da concentração de células totais (ISO 2009). Assim para a estreptorrubina B as concentrações de 0,1 e 0,2 mg/mL não apresentaram toxicidade.

Koyun e colaboradores [99] observaram elevado efeito citotóxico do pigmento prodigiosina em concentrações de 100 μ M para fibroblastos de camundongos, entretanto concentrações de 75, 50, 25 e 10 μ M não exibiram qualquer efeito citotóxico.

Ensaio Cometa

Os resultados da genotoxicidade do pigmento no ensaio cometa alcalino utilizando o modelo *Biomphalaria glabrata* são demonstrados na **Figura 20**. A concentração de 0,1mg/mL do pigmento não demonstrou danos significativos ao DNA, sendo observada a prevalência da categoria 0-2. Entretanto a concentração de 0,2 mg/mL do pigmento exibiu danos significativos aos hemócitos de *B. glabrata*. Esse comportamento sugere que aparentemente a ação genotóxica do pigmento está associada a dose administrada. A presença de efeitos genotóxicos de prodigininas são, geralmente, seletivos [100, 75] e compreendem, dentre outras consequências, fragmentação da cromatina e interferência no ciclo celular [75]. Além da prodigiosina, estudos prévios já investigaram efeitos citogenéticos da undecilprodigiosina e butilcicloheptilprodigiosina [101]. Por outro lado, efeitos genotóxicos da estreptorrubina B não foram investigados até o momento.

Figura 20. Análises de danos genéticos (0-4) em hemócitos de *Biomphalaria glabrata* expostos ao pigmento Estreptorrubina B. 0 indica que não ocorreu danos, enquanto as categorias de 1 a 4 indicam danos em níveis crescentes sobre o material genético. Sendo CN (controle negativo), Solv (solvente – etanol 1,1%) e MMS (metilmetano sulfonato).



Fonte: a autora

Os efeitos genotóxicos das prodigininas são considerados benéficos quando da utilização em células neoplásicas. Undecilprodigiosina e butilcicloheptilprodigiosina associadas a diferentes doses de radiação demonstraram efeitos antiproliferativos em células anormais de Câncer de Mama (MCF-7) e Fibroblastos Dérmicos Humanos (HDF) [101], com ação antiproliferativa dose dependente e não relacionada diretamente com o nível de radiação utilizada.

Além da ação antiproliferativa em linhagens cancerígenas, estudos também demonstraram a segurança e toxicidade seletiva das prodigininas [75, 99]. Enquanto a prodigiosina apresenta ação citotóxica e genotóxica em células Caco-2 e HCT 116 (adenocarcinoma e carcinoma colorretal humano, respectivamente), o teste de Ensaio Cometa Alcalino não demonstrou danos ao DNA de células não carcinogênicas, reforçando o perfil seletivo do pigmento [75]. Tal efeito seletivo pode estar relacionado ao potencial da prodigiosina de atuar como inibidora enzimática do processo de replicação do DNA ou ainda, de se ligar ao citoesqueleto celular alterando a morfologia e viabilidade de células carcinogênicas [75].

Além de, aparentemente, não ter efeito no DNA de células saudáveis, efeitos antigenotóxicos também tem sido associados a prodigininas. O DNA de fibroblastos L929 de camundongos expostos a diferentes concentrações de Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2), demonstraram menos lesões quando tratados com prodigiosina [99]. A ação antioxidante e o anel pirrólico único da prodigiosina são apontados como possíveis justificativas para tal efeito, embora estudos mais aprofundados sejam necessários.

Conclusão

Este estudo conduziu à identificação e caracterização fenotípica e molecular de *Streptomyces hiroshimensis* UFPEDA 3134 como produtor de estreptorrubina B, destacando-se como uma alternativa natural viável para a obtenção deste pigmento vermelho. Pertencente à família das prodigininas, estreptorrubina B foi estudada em relação às suas propriedades físico-químicas, biológicas e potencial biotecnológico. A produção de estreptorrubina B por *S. hiroshimensis* UFPEDA 3134 pode representar uma fonte sustentável, dada a capacidade de cultivo controlado deste micro-organismo, que não está sujeito às variações sazonais típicas das fontes vegetais.

As características físico-químicas observadas, incluindo a estabilidade térmica e a sensibilidade ao pH de estreptorrubina B, são propriedades críticas que facilitam

a aplicação deste pigmento nas indústrias farmacêutica, têxtil e alimentícia. Estes setores beneficiam-se de pigmentos capazes de manter a integridade em condições extremas de processamento, como variações significativas de temperatura e pH. Adicionalmente, a atividade antimicrobiana demonstrada contra *Staphylococcus aureus* MRSA, apesar de limitada, abre caminho para o uso deste pigmento em estratégias de combate a patógenos resistentes a medicamentos, potencialmente em combinação com outros agentes para aumentar sua eficácia.

No entanto, apesar dos relatos existentes sobre a produção de estreptorrubina B por *S. hiroshimensis*, os estudos focados nas propriedades e aplicações específicas deste pigmento são notavelmente escassos. A elucidação estrutural dos componentes de estreptorrubina B é fundamental para compreender sua bioatividade, especialmente considerando que a funcionalidade e a segurança do pigmento estão intrinsecamente ligadas à sua composição química. A correlação entre a concentração de estreptorrubina B e o dano ao DNA sugere que altas concentrações deste pigmento podem ser genotóxicas, enquanto concentrações inferiores a 0,2 mg/mL apresentam menor risco, destacando a importância de dosagem controlada em suas aplicações.

Dessa forma, estreptorrubina B configura um candidato promissor ao desenvolvimento de novos compostos bioativos de relevância biotecnológica. A escassez de pesquisas detalhadas sobre este pigmento ressalta a necessidade urgente de estudos adicionais que investiguem não apenas suas propriedades bioativas, mas também os mecanismos subjacentes a essas atividades. O entendimento aprofundado de sua bioatividade e potenciais riscos ajudará a otimizar seu uso e expansão em diversas aplicações biotecnológicas.

Declaração de contribuições dos autores (CRediT)

Silva Amanda: Escrita – revisão, edição e rascunho original; Metodologia, Investigação, Conceitualização, Análise Formal, Validação. **Santos Edson:** Análise Formal, Metodologia, Investigação, Conceitualização, Escrita – edição e revisão. **Brentan Denise:** Investigação, Metodologia, Análise Formal e Validação. **Montanholi Arthur:** Investigação, Metodologia, Análise Formal e Validação. **Albuquerque Ana Carolina:** Investigação, Metodologia, Análise Formal e Validação. **Santos Júnior Fernando:** Investigação, Metodologia, Análise Formal e Validação. **Costa Júnior Henrique:** Escrita – rascunho original, Investigação, Metodologia, Análise Formal e Validação. **Mendes Raudiney:** Escrita – rascunho original, Investigação, Metodologia,

Análise Formal e Validação. **Ximenes Rafael:** Investigação, Metodologia, Análise Formal e Validação. **Silva Mariza:** Investigação, Metodologia, Análise Formal e Validação. **Góes Alexandre:** Investigação, Metodologia, Análise Formal e Validação. **Lima Maíra:** Investigação, Metodologia, Análise Formal e Validação. **Melo Ana Maria:** Investigação, Metodologia, Análise Formal e Validação. **Aguilar Jaciana:** Escrita – edição e revisão. **Lima-Gomes Gláucia:** Escrita – edição e revisão, Investigação, Metodologia, Análise Formal e Validação.

Fontes de financiamento

Esse trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não ter conhecimento de conflitos de interesses financeiros ou relacionamentos pessoais que possam ter influenciado o trabalho relatado neste artigo.

Agradecimentos

Os autores agradecem à instituição de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), a Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), a Universidade Federal Fluminense (UFF) e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (PPGCB).

Referências

- [1] Chen YY, Huang KT, Huang, CJ. Polymerizable fatty acid surfactant: Encapsulation of organic pigments for excellent colloidal stability in aqueous solution and water-repellent property. *Dyes and Pig.* 2022;232, 112488. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2024.112488>
- [2] Zhu Y, Shang X, Yang L, Zheng S, Liu K, & Li X. Purification, identification and properties of a new blue pigment produced from *Streptomyces* sp. A1013Y. *Food Chem.* 2020; 308, 125600. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125600>
- [3] Santos ALDC, Ferreira ACA, & Figueiredo JRD. Potential use of bacterial pigments as anticancer drugs and female reproductive toxicity: a review. *Ciência Animal Brasileira*, 2022;23, e-72911. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v23e-72911E>
- [4] Alzahrani NH, El-Bondkly A AM, El-Gendy MMA A, El-Bondkly AM. Enhancement of undecylprodigiosin production from marine endophytic recombinant strain *Streptomyces* sp. ALAA-R20 through low-cost induction strategy. *J. Appl. Genet.*, 2021; 62, 165-182.

<https://doi.org/10.1007/s13353-020-00597-x>

[5] Mnif S, Jardak M, Bouizgarne B, Aifa S. Prodigiosin from *Serratia*: Synthesis and potential applications. *Asian. Pac. J. Trop. Biomed.*, 2022; 12:6, 233-242. <https://doi.org/10.4103/2221-1691.345515>

[6] Pattnaik S, Imchen M, Kumavath R, Prasad R, Busi S. Bioactive microbial metabolites in cancer therapeutics: mining, repurposing, and their molecular targets. *Curr Microbiol*, 2022; 79:10, 300. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-02990-7>

[7] Wang Z, Yin J, Bai M, Yang J, Jiang C, Yi X, ... & Gao C. New Polyene Macrolide Compounds from Mangrove-Derived Strain *Streptomyces hiroshimensis* GXIMD 06359: Isolation, Antifungal Activity, and Mechanism against *Talaromyces marneffe*. *Mar. Drugs*, 2024; 22:1, 38. <https://doi.org/10.3390/md22010038>

[8] Gacem M A, Ould-El-Hadj-Khelil A, Boudjemaa B, & Wink J. Antimicrobial and antioxidant effects of a forest actinobacterium V 002 as new producer of spectinabilin, undecylprodigiosin and metacycloprodigiosin. *Curr Microbiol.* 2020; 77 2575-2583. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02007-1>

[9] Lu Y, Liu D, Jiang R, Li Z, & Gao, X. Prodigiosin: unveiling the crimson wonder—a comprehensive journey from diverse bioactivity to synthesis and yield enhancement. *Front. Microbiol.* 2024; 15 1412776. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1412776>

[10] Lin X, Dong L, Miao Q, Huang Z, Wang F. Cycloheptylprodigiosin from marine bacterium *Spartinivicius ruber* MCCC 1K03745T induces a novel form of cell death characterized by Golgi disruption and enhanced secretion of cathepsin D in non-small cell lung cancer cell lines. *Eur. J. Pharmacol.* 2024; 974, 176608. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2024.176608>

[11] Zhang C, Liang J, Yang L, Sun B, Wang C. De novo RNA sequencing and transcriptome analysis of *Monascus purpureus* and analysis of key genes involved in monacolin K biosynthesis. *PLoS One.* 2017; 12(1), e0170149. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170149>

[12] Yi, JS, Kim JM, Kang MK, Kim JH, Cho HS, Ban YH, Yoon YJ. Whole-genome sequencing and analysis of *Streptomyces* strains producing multiple antinematode drugs. *BMC genomics.* 2022; 23(1), 610. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08847-4>

[13] Withall DM, Haynes SW, Challis GL. Stereochemistry and mechanism of undecylprodigiosin oxidative carbocyclization to streptorubin B by the Rieske oxygenase RedG. *J Am Chem Soc.* 2015; 137;24, 7889-7897. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b03994>

[14] Paul T, Bandyopadhyay TK, Mondal A, Tiwari ON, Muthuraj M, Bhunia B. A comprehensive review on recent trends in production, purification, and applications of prodigiosin. *Biomass Convers Biorefin.* 2020. 1-23. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00928-2>

[15] Marshall AP, Johnson AR, Vega MM, Thomson RJ, Carlson EE. Ion mobility mass spectrometry as an efficient tool for identification of streptorubin B in *Streptomyces coelicolor* M145. *J Nat Prod.* 2020; 83:1, 159-163. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00828>

[16] Suzuki N, Ohtaguro N, Yoshida Y, Hirai M, Matsuo H, Yamada, Y, & Tsuchiya T. A compound inhibits biofilm formation of *Staphylococcus aureus* from *Streptomyces*. *Biol Pharm Bull.* 2015; 38:6, 889-892. <https://doi.org/10.1248/bpb.b15-00053>

- [17] Brandner L, Müller TJ. Multicomponent synthesis of chromophores–The one-pot approach to functional π -systems. *Front Chem.* 2023; 11, 1124209. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170149>
- [18] Silva AM, de Araújo Sobral M, Cruz Filho I J, de Queiroz Xavier AT, de Lima Silva M S, Santos BS, ... & de Souza Lima-Gomes GM. Red pigment production by *Amycolatopsis* sp. UFPEDA 3422. *Res Soc Dev.* 2022; 11(7), e24711729841-e24711729841. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i7.29841>
- [19] Shirling ET, Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int J Syst Evol Microbiol.* 1966; 16:3, 313-340. <https://doi.org/10.1099/00207713-16-3-313>
- [20] Jones KL. Fresh isolates of actinomycetes in which the presence of sporogenous aerial mycelia is a fluctuating characteristic. *J Bacteriol.* 1949; 57:2, 141-145. <https://doi.org/10.1128/jb.57.2.141-145.1949>
- [21] Sierra, G. (1957). A simple method for the detection of lipolytic activity of micro-organisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie van Leeuwenhoek*, 23, 15-22. <https://doi.org/10.1007/BF02545855>
- [22] Gordon, R. E., Barnett, D. A., Handerhan, J. E., & Pang, C. H. N. (1974). *Nocardia coeliaca*, *Nocardia autotrophica*, and the nocardin strain. *Int J Syst Evol Microbiol*, 24(1), 54-63. Doi: <https://doi.org/10.1099/00207713-24-1-54>
- [23] Huang Z, Dong L, Lai Q, Liu J. *Spartinivacinus ruber* gen. nov., sp. nov., a novel marine gammaproteobacterium producing heptylprodigiosin and cycloheptylprodigiosin as major red pigments. *Front. Microbiol.* 2020; 11, 2056. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02056>
- [24] CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 27th Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2017.
- [25] Sambrook J, David W. R. *Molecular cloning: a laboratory manual.*, 3rd ed. New York Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2001.
- [26] Hemeda NA, Hegazy GE, Abdelgalil SA, Soliman NA, Abdel-Meguid DI, El-Assar, S. A. Maximization of red pigment production from *Streptomyces* sp. LS1 structure elucidation and application as antimicrobial/antifouling against human pathogens and marine microbes. *J Genet Eng Biotechnol.* 2022; 20:1, 168. <https://doi.org/10.1186/s43141-022-00452-y>
- [27] Esteves NC, Scharf BE. *Serratia marcescens* ATCC 274 increases production of the red pigment prodigiosin in response to Chi phage infection. *Scientific Reports.* 2024. 14:1, 17750. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-68747-3>
- [28] da Costa Souza PN, Grigoletto, TLB, de Moraes, LAB, Abreu LM, Guimarães LH. S., Santos C, ... Cardoso, PG. Production and chemical characterization of pigments in filamentous fungi. *Microbiology.* 2016. 162:1, 12-22. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000168>
- [29] Abdollahi F, Jahadi M, Ghavami, M. Thermal stability of natural pigments produced by *Monascus purpureus* in submerged fermentation. *Food Sci Nutr.* 2021. 9:9, 4855-4862. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2425>
- [30] Ahmad WA, Yusof NZ, Nordin N, Zakaria, ZA, Rezali MF. Production and characterization of violacein by locally isolated *Chromobacterium violaceum* grown in agricultural wastes. *Appl Biochem Biotechnol.* 2012. 167, 1220-1234. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9553-7>

- [31] Szadkowski B, Rogowski J, Maniukiewicz, W, Beyou E, Marzec, A. New natural organic–inorganic pH indicators: Synthesis and characterization of pro-ecological hybrid pigments based on anthraquinone dyes and mineral supports. *J Ind Eng Chem* 2022. 105 446-462. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2021.10.004>
- [32] Peleg AY, Jara S, Monga D, Eliopoulos GM, Moellering Jr RC, Mylonakis E. *Galleria mellonella* as a model system to study *Acinetobacter baumannii* pathogenesis and therapeutics. *Antimicrob Agents Chemother* 2009. 53:6, 2605-2609. <https://doi.org/10.1128/aac.01533-08>
- [33] Andrea A, Krogfelt KA, Jenssen H. Methods and challenges of using the greater wax moth (*Galleria mellonella*) as a model organism in antimicrobial compound discovery. *Microorganisms* 2019. 7:3, 85. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7030085>
- [34] Jorjão AL, Oliveira LD, Scorzoni L, Figueiredo-Godoi LMA, Cristina A, Prata M, Jorge, AOC, Junqueira JC. From moths to caterpillars: Ideal conditions for *Galleria mellonella* rearing for in vivo microbiological studies. *Virulence* 2018. 9:1, 383-389. <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1397871>
- [35] Pereira TC, De Barros PP, Fugisaki, LRDO, Rossoni RD, Ribeiro FDC, De Menezes, R, ... Scorzoni L. Recent advances in the use of *Galleria mellonella* model to study immune responses against human pathogens. *J Fungi (Basel)* 2018. 4:4, 128. <https://doi.org/10.3390/jof4040128>
- [36] Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 1974. 77:1, 71-94. <https://doi.org/10.1093/genetics/77.1.71>
- [37] Tampakakis E, Okoli I, Mylonakis E. A *C. elegans*-based, whole animal, in vivo screen for the identification of antifungal compounds. *Nat Protoc* 2008. 3:12, 1925-1931. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.193>
- [38] Fischer F, Böhm L, Höss S, Möhlenkamp C, Claus E, Düring RA, & Schäfer S. Passive dosing in chronic toxicity tests with the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environ Sci Technol* 2016. 50:17 9708-9716. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02956>
- [39] Katiki LM, Ferreira JF, Zajac AM, Masler C, Lindsay DS, Chagas, ACS, & Amarante AF. *Caenorhabditis elegans* as a model to screen plant extracts and compounds as natural anthelmintics for veterinary use. *Vet Parasitol* 2011. 182:2-4, 264-268. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.020>
- [40] Varão AM, Silva JDS, Amaral LO, Aleixo LLP, Onduras A, Santos CS, ... & Gubert P. Toxic effects of thallium acetate by acute exposure to the nematode *C. elegans*. *J Trace Elem Med Biol* 2021. 68, 126848. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126848>
- [41] de Siqueira WN, de França EJ, Pereira DR, de Vasconcelos Lima M, Silva HAMF, de Araújo HDA, ... & de Albuquerque Melo AMM. Study of genotoxic and cytotoxic effects after acute and chronic exposures to industrial sewage sludge on *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Chemosphere* 2020. 249, 126218. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126218>
- [42] Lima MG, Montresor LC, Pontes J, Augusto RDC, Silva JPD, & Thiengo, SC. Compatibility polymorphism based on long-term host-parasite relationships: Cross talking between *Biomphalaria glabrata* and the trematode *Schistosoma mansoni* from endemic areas in Brazil. *Front Immunol* 2019. 10, 328. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00328>

- [43] Pavlica M, Klobučar GI, Vetma N, Erben R, & Papeš, D. Detection of micronuclei in haemocytes of zebra mussel and great ramshorn snail exposed to pentachlorophenol. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 2000. 465:1-2, 145-150. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(99\)00222-3](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(99)00222-3)
- [44] Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 1988. 175:1, 184-191. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2280\(1999\)34:4<246::AID-EM4>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2280(1999)34:4<246::AID-EM4>3.0.CO;2-V)
- [45] Grazeffe VS, de Freitas Tallarico L, de Sa Pinheiro A, Kawano T, Suzuki MF, Okazaki K, ... & Nakano E. Establishment of the comet assay in the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 2008. 654:1 58-63. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.05.007>
- [46] Collins AR, Oscoz AA, Brunborg G, Gaivao I, Giovannelli L, Kruszewski M, ... & Štětina R. The comet assay: topical issues. *Mutagenesis* 2008. 23:3, 143-151. <https://doi.org/10.1093/mutage/gem051>
- [47] Van der Aart LT, Nouioui I, Kloosterman A, Igual JM, Willemse J, Goodfellow M., & van Wezel GP. Polyphasic classification of the gifted natural product producer *Streptomyces roseifaciens* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2019. 69:4, 899-908. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003215>
- [48] Hatano K, Nishii T, & Kasai H. Taxonomic re-evaluation of whorl-forming *Streptomyces* (formerly *Streptoverticillium*) species by using phenotypes, DNA–DNA hybridization and sequences of gyrB, and proposal of *Streptomyces luteireticuli* (ex Katoh and Arai 1957) corrig., sp. nov., nom. rev. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003. 53:5 1519-1529. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.02238-0>
- [49] Hazarika DJ, Kakoti M, Kalita R, Gautam T. Goswami G, Barooah M, & Boro RC. Prodigiosin from an endofungal bacterium *Serratia marcescens* D1 inhibits biofilm formation in gram-positive bacteria. *Microbiology* 2021. 90:6 829-838. <https://doi.org/10.1134/S0026261722010052>
- [50] Hu D X, Clift MD, Lazarski KE, Thomson RJ. Enantioselective total synthesis and confirmation of the absolute and relative stereochemistry of streptorubin B. *J Am Chem Soc* 2011. 133:6, 1799-1804. <https://doi.org/10.1021/ja109165f>
- [51] Kimata S, Izawa M, Kawasaki T, & Hayakawa Y. Identification of a prodigiosin cyclization gene in the roseophilin producer and production of a new cyclized prodigiosin in a heterologous host. *J Antibiot* 2017. 70:2, 196-199. <https://doi.org/10.1038/ja.2016.94>
- [52] Wasserman HH, Rodgers GC, & Keith DD. Metacycloprodigiosin, a tripyrrole pigment from *Streptomyces longisporus* ruber. *J Am Chem Soc* 1969. 91:5, 1263-1264. <https://doi.org/10.1021/ja01033a065>
- [53] Gerber NN, & Stahly DP. Prodiginine (prodigiosin-like) pigments from *Streptoverticillium rubrireticuli*, an organism that causes pink staining of polyvinyl chloride. *Applied Microbiology* 1975. 30:5, 807-810. [10.1128/am.30.5.807-810.1975](https://doi.org/10.1128/am.30.5.807-810.1975)
- [54] Gerber NN, McInnes AG, Smith DG, Walter JA, Wright JL, & Vining LC. Biosynthesis of prodiginines. ¹³C resonance assignments and enrichment patterns in nonyl-, cyclononyl-, methylcyclodecyl-, and butylcycloheptylprodiginine produced by actinomycete cultures supplemented with ¹³C-labeled acetate and ¹⁵N-labeled nitrate. *Can J Chem* 1978. 56:9 1155-1163. <https://doi.org/10.1139/v78-194>

- [55] Tsao SW, Rudd BA, He XG, Chang CJ, & Floss HG. Identification of a red pigment from *Streptomyces coelicolor* A3 (2) as a mixture of prodigiosin derivatives. *J Antibiot* 1985. 38:1, 128-131. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.38.128>
- [56] Laatsch H, Kellner M, Weyland H. Butyl-meta-cycloheptylprodiginine-a revision of the structure of the former ortho-isomer. *J Antibiot* 1991. 44(2), 187-191. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.44.187>
- [57] Fürstner A, Radkowski K, Peters H. Chasing a phantom by total synthesis: the butylcycloheptylprodigiosin case. *Angew Chem Int Ed Engl* 2005. 44:18, 2777-2781. <https://doi.org/10.1002/anie.200462215>
- [58] Reeves JT. A concise synthesis of butylcycloheptylprodigiosin. *Org Lett* 2007. 9:10, 1879-1881. <https://doi.org/10.1021/ol070341i>
- [59] Clift MD, Thomson RJ. Development of a merged conjugate addition/oxidative coupling sequence. Application to the enantioselective total synthesis of metacycloprodigiosin and prodigiosin R1. *J Am Chem Soc* 2009. 131:40 14579-14583. <https://doi.org/10.1021/ja906122g>
- [60] Haynes SW, Sydor PK, Corre C, Song L, Challis, G L. Stereochemical elucidation of streptorubin B. *J Am Chem Soc* 2011. 133:6, 1793-1798. <https://doi.org/10.1021/ja109164t>
- [61] Jones BT, Hu DX, Savoie BM, & Thomson RJ. Elimination of butylcycloheptylprodigiosin as a known natural product inspired by an evolutionary hypothesis for cyclic prodigiosin biosynthesis. *J Nat Prod* 2013. 76:10, 1937-1945. <https://doi.org/10.1021/np400531b>
- [62] Hu DX, Withall DM, Challis GL, & Thomson RJ. Structure, chemical synthesis, and biosynthesis of prodiginine natural products. *Chem Rev* 2016. 116:14, 7818-7853. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00024>
- [63] Mo S, Sydor PK, Corre C, Alhamadsheh MM, Stanley AE, Haynes SW, ... & Challis, GL. Elucidation of the *Streptomyces coelicolor* pathway to 2-undecylpyrrole, a key intermediate in undecylprodiginine and streptorubin B biosynthesis. *Chem Biol* 2008. 15:2, 137-148. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2007.11.015>
- [64] Han EJ, Jeong M, Lee SR, Sorensen EJ, Seyedsayamdost, MR. Hirocidins, Cytotoxic Metabolites from *Streptomyces hiroshimensis*, Induce Mitochondrion-Mediated Apoptosis. *Angew Chem Int Ed Engl* 2024. 63:37, e202405367. <https://doi.org/10.1002/anie.202405367>
- [65] Enaru B, Dreţcanu G, Pop TD, Stănilă A, Diaconeasa Z. Anthocyanins: Factors affecting their stability and degradation. *Antioxidants* 2021. 10:12, 1967. <https://doi.org/10.3390/antiox10121967>
- [66] Sen T, Barrow CJ, Deshmukh SK. Microbial pigments in the food industry—challenges and the way forward. *Frontiers in nutrition* 2019., 6:7. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00007>
- [67] Rana B, Bhattacharyya M, Patni B, Arya M, & Joshi GK. The realm of microbial pigments in the food color market. *Front Sustain Food Syst* 2021. 5, 603892. Doi: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.603892>
- [68] Kramar A, Kostic MM. Bacterial secondary metabolites as biopigments for textile dyeing. *Textiles* 2022. 2:2 252-264. <https://doi.org/10.3390/textiles2020013>

- [69] Govindaraj C, Ugamoorthi R, Ramarethinam S. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* for bacterial pigment production and its application on synthetic knitted fabric. 2021. <http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/57639>
- [70] Jurić S, Jurić M, Król-Kilińska Ż, Vlahoviček-Kahlina K, Vinceković M, Dragović-Uzelac V, Donsi F. Sources, stability, encapsulation and application of natural pigments in foods. *Food Rev Inter* 2020. 38:8, 1735-1790. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1837862>
- [71] Meng-Xi LI, Hui-Bin H, Jie-Yun L, Jing-Xiao CA. O, Zhen-Wang Z. Antibacterial performance of a *Streptomyces spectabilis* strain producing metacycloprodigiosin. *Curr Microbiol* 2021. 78:7 2569-2576. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02513-w>
- [72] Rudrappa M, Kumar S, Kumar RS, Almansour AI, Perumal K, Nayaka S. Bioproduction, purification and physicochemical characterization of melanin from *Streptomyces* sp. strain MR28. *Microbiol Res* 2022. 263, 127130. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127130>
- [73] Zhang S, Wu J, Jiang Z, Zhang L, Song T, Liu X, ... & Zhang Y. Pigments of aminophenoxazinones and viridomycins produced by termite-associated *Streptomyces tanashiensis* BYF-112. *Front. Microbiol.* 2023. 13, 1110811. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1110811>
- [74] Zhao Y, Guo L, Xia Y, Zhuang X, & Chu W. Isolation, identification of carotenoid-producing *Rhodotorula* sp. from marine environment and optimization for carotenoid production. *Mar drugs* 2019. 17:3, 161. <https://doi.org/10.3390/md17030161>
- [75] Guryanov I, Naumenko E, Akhatova F, Lazzara G, Cavallaro G, Nigamatzyanova L, & Fakhrullin R. Selective cytotoxic activity of prodigiosin@ halloysite nanoformulation. *Front Bioeng Biotechnol* 2020. 8, 424. <https://doi.org/10.1155/2014/290327>
- [76] Sumathi C, MohanaPriya D, Swarnalatha S, Dinesh MG, Sekaran G. Production of prodigiosin using tannery fleshing and evaluating its pharmacological effects. *The Scientific World Journal* 2014. 1, 290327. <https://doi.org/10.1155/2014/290327>
- [77] Siddharth S, Aswathanarayan JB, Kuruburu MG, Madhunapantula SRV., Vittal RR. Diketopiperazine derivative from marine actinomycetes *Nocardioopsis* sp. SCA30 with antimicrobial activity against MRSA. *Arch Microbiol* 2021., 203, 6173-6181. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02582-2>
- [78] Sandoval-Powers M, Králová S, Nguyen GS, Fawwal DV, Degnes K, Lewin AS, ... & Liles MR. *Streptomyces poriferorum* sp. nov., a novel marine sponge-derived Actinobacteria species expressing anti-MRSA activity. *Syst Appl Microbiol* 2021. 44:5, 126244. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2021.126244>
- [79] Mahizan N A, Yang SK, Moo CL, Song AAL, Chong CM, Chong CW, ... & Lai KS. Terpene derivatives as a potential agent against antimicrobial resistance (AMR) pathogens. *Molecules* 2019. 24:14, 2631. <https://doi.org/10.3390/molecules24142631>
- [80] Jubair N, Rajagopal M, Chinnappan S, Abdullah NB, & Fatima A. Review on the antibacterial mechanism of plant-derived compounds against multidrug-resistant bacteria (MDR). *Evid Based Complement Alternat Med* 2021., 2021(1), 3663315. <https://doi.org/10.1155/2021/3663315>
- [81] Karpiński TM, Ożarowski M, Alam R, Łochyńska M, Stasiewicz M. What do we know about antimicrobial activity of astaxanthin and fucoxanthin? *Mar. Drugs* 2021. 20:1, 36. <https://doi.org/10.3390/md20010036>

- [82] Guryanov I, Naumenko E. Bacterial Pigment Prodigiosin as Multifaceted Compound for Medical and Industrial Application. *Applied Microbiology*, 2024, 4:4, 1702-1728. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4040115>
- [83] Anuj SA, Gajera HP, Hirpara DG, Golakiya BA. Interruption in membrane permeability of drug-resistant *Staphylococcus aureus* with cationic particles of nano silver. *Eur J Pharm Sci* 2019. 127, 208-216. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.11.005>
- [84] Lekshmi M, Ammini P, Adjei J, Sanford LM, Shrestha U, Kumar S, Varela MF. Modulation of antimicrobial efflux pumps of the major facilitator superfamily in *Staphylococcus aureus*. *AIMS microbiology* 2018. 4:1. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.1.1>
- [85] Foster TJ. The remarkably multifunctional fibronectin binding proteins of *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016. 35, 1923-1931. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2763-0>
- [86] Nakaminami H, Takadama S, Okita M, Sasaki M, Noguchi N. Fast-acting bactericidal activity of olanexidine gluconate against qacA/B-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 2019. 68:6, 957-960. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000979>
- [87] Xue L, Chen YY, Yan Z, Lu W, Wan D, Zhu H. Staphyloxanthin: a potential target for antivirulence therapy. *Infect Drug Resist* 2019. 2151-2160. <http://doi.org/10.2147/IDR.S193649>
- [88] Ye X, Huang Y, Zhou C, Liu X, Zhao W, Zhao X, ... Ma L. MSI-1 combats drug-resistant *S. aureus* by affecting bacterial viability and inhibiting carotenoid pigment production. *Microbiol Res* 2022. 255, 126909. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126909>
- [89] Afroz Toma M, Rahman MH, Rahman MS, Arif M, Nazir KNH, Dufossé, L. Fungal pigments: Carotenoids, riboflavin, and polyketides with diverse applications. *J Fungi (Basel)* 2023., 9:4, 454. <https://doi.org/10.3390/jof9040454>
- [90] Herráez R, Mur A, Merlos A, Viñas M, Vinuesa T. Using prodigiosin against some gram-positive and gram-negative bacteria and *Trypanosoma cruzi*. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* 2019. 25, e20190001. [10.1590/1678-9199-JVATITD-2019-0001](https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2019-0001)
- [91] Karpiński TM, Adamczak A. Fucoxanthin—An antibacterial carotenoid. *Antioxidants* 2019. 8(8), 239. <https://doi.org/10.3390/antiox8080239>
- [92] Curtis A, Binder U, Kavanagh K. *Galleria mellonella* larvae as a model for investigating fungal—host interactions. *Front Fungal Biol* 2022. 3, 893494. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2022.893494>
- [93] Serrano I, Verdial C, Tavares L, Oliveira M. The virtuous *Galleria mellonella* model for scientific experimentation. *Antibiotics* 2023. 12:3, 505. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030505>
- [94] Habash SS, Brass HU, Klein AS, Klebl DP, Weber TM, Classen T, ... & Schleker A. SS. Novel prodiginine derivatives demonstrate bioactivities on plants, nematodes, and fungi. *Front Plant Sci* 2020. 11, 579807. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.579807>
- [95] Lazic J, Skaro Bogojevic S, Vojnovic S, Aleksic I, Milivojevic D, Kretzschmar M, ... & Nikodinovic-Runic J. Synthesis, anticancer potential and comprehensive toxicity studies of novel brominated derivatives of bacterial biopigment prodigiosin from *Serratia marcescens*

ATCC 27117. *Molecules* 2022. 27:12, 3729. <https://doi.org/10.3390/molecules27123729>

[96] Allegra E, Titball R W, Carter J, & Champion OL. *Galleria mellonella* larvae allow the discrimination of toxic and non-toxic chemicals. *Chemosphere* 2018., 198, 469-472. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.175>

[97] Ramesh C, Prasastha VR, Venkatachalam M, Dufossé L. Natural substrates and culture conditions to produce pigments from potential microbes in submerged fermentation. *Fermentation* 2022. 8:9, 460. <https://doi.org/10.3390/fermentation8090460>

[98] Mc Namara L, Dolan SK, Walsh JM, Stephens JC, Glare TR, Kavanagh K, Griffin, CT. Oosporein, an abundant metabolite in *Beauveria caledonica*, with a feedback induction mechanism and a role in insect virulence. *Fungal biology* 2019. 23:8, 601-610. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.01.004>

[99] Koyun MT, Sirin S, Aslim B, Taner G, Dolanbay, SN. Characterization of prodigiosin pigment by *Serratia marcescens* and the evaluation of its bioactivities. *Toxicology in vitro* 2022. 82, 105368. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2022.105368>

[100] Danevcic T, Vezjak MB, Tabor M, Zorec M, Stopar D. Prodigiosin induces autolysins in actively grown *Bacillus subtilis* cells. *Front Microbiol* 2016. 7:27. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00027>

[101] Arshadi Z, Hosseini SA, Fatehi D, Mirzaei SA, Elahian F. Butylcycloheptylprodigiosin and undecylprodigiosin are potential photosensitizer candidates for photodynamic cancer therapy. *Mol Biol Rep* 2021., 48, 5965-5975. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06598-1>

MATERIAL SUPPLEMENTAR

Figura 1. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do corante produzido por *Streptomyces* sp.

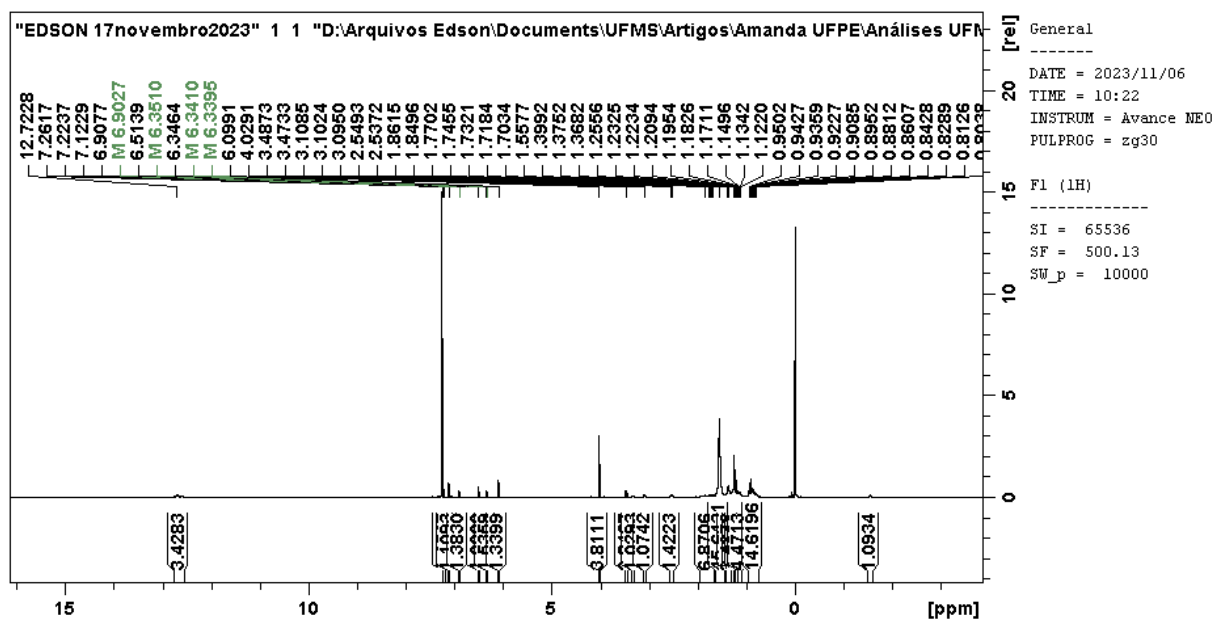


Figura 2. Estrutura molecular da metacicloprodiginosina.

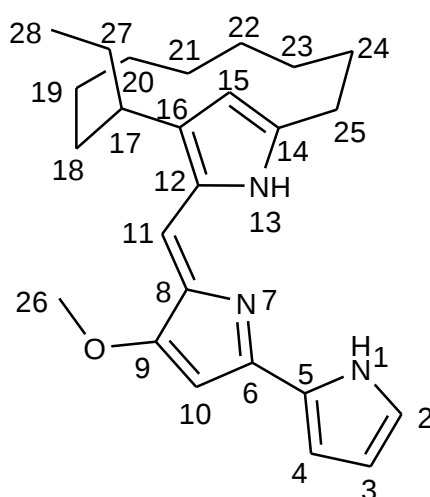


Figura 3. Estrutura de raio-X da (*R*)-estreptorrubina B sintética (Hu et al., 2011).

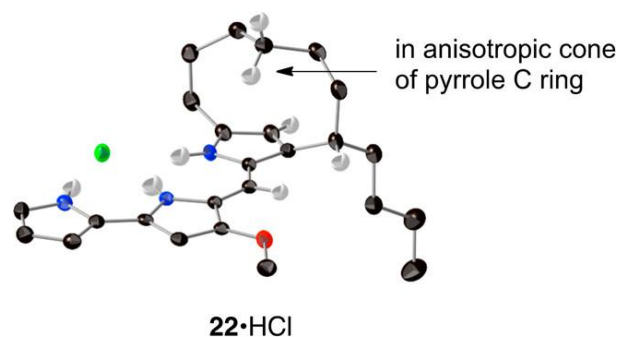


Figura 4. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

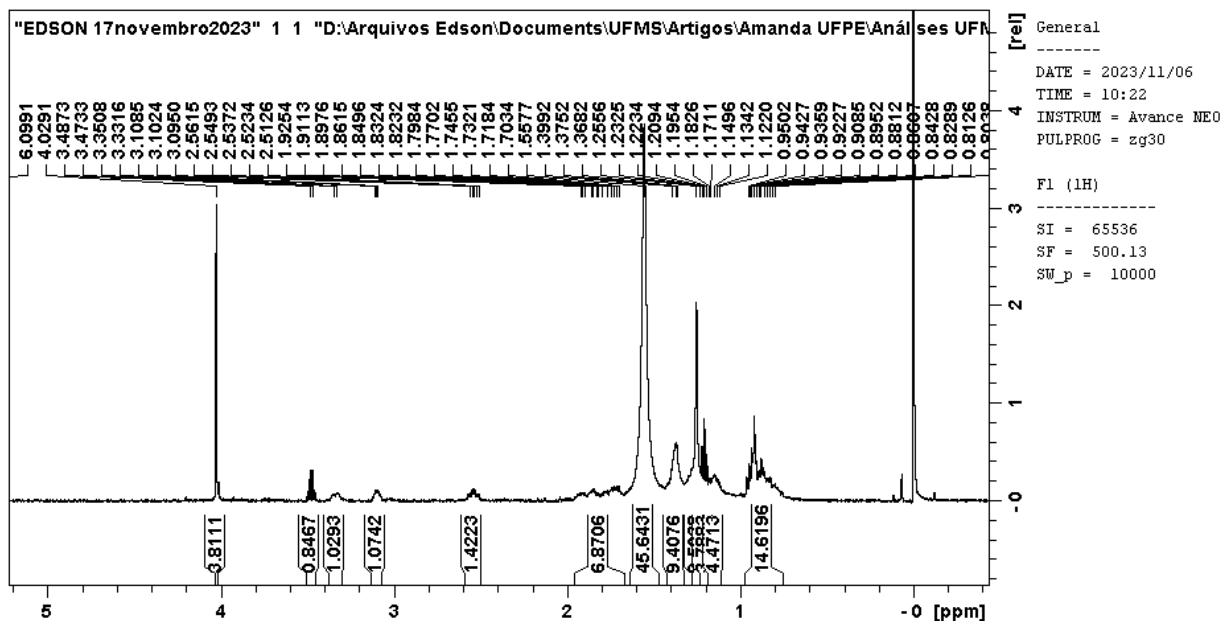


Figura 5. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

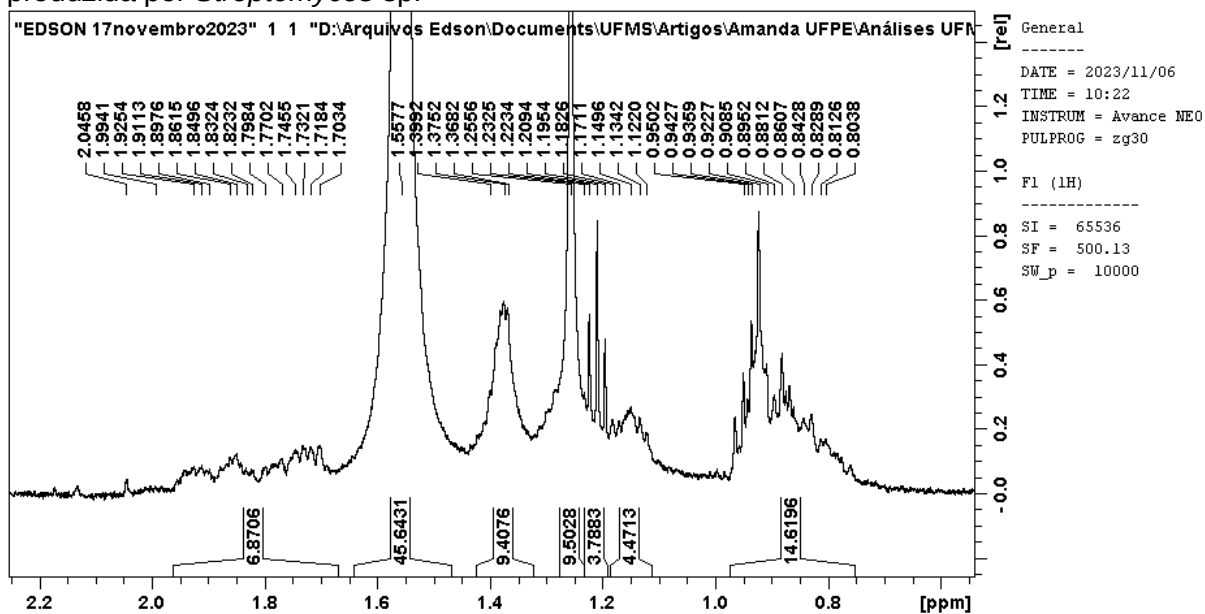


Figura 6. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

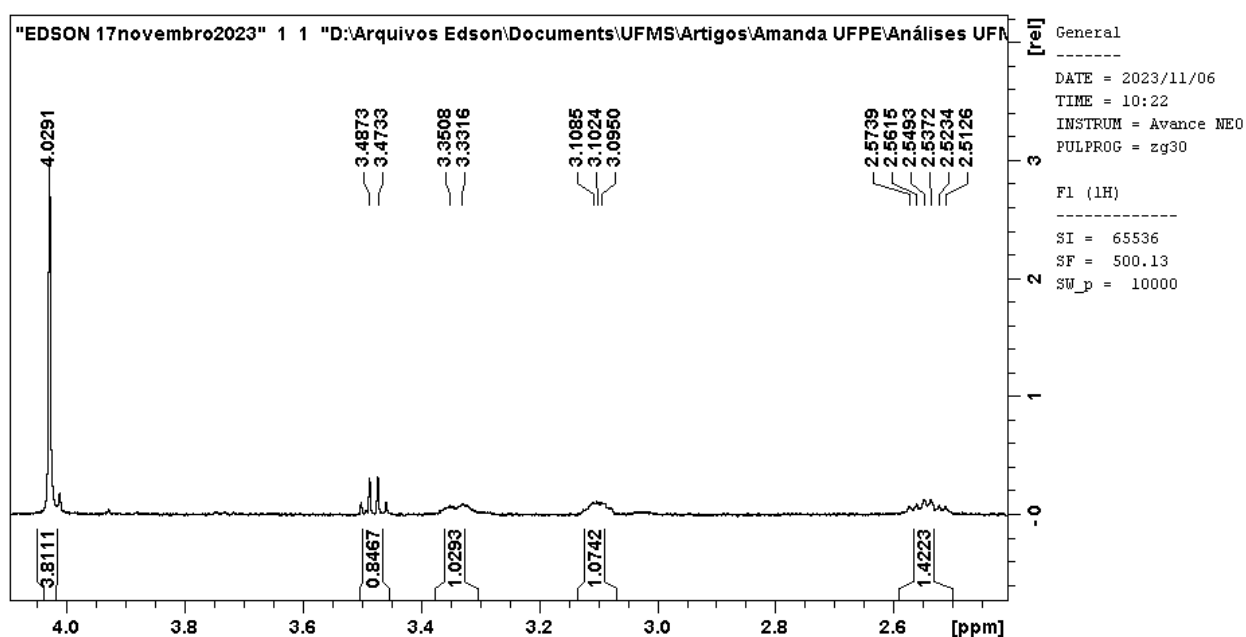


Figura 7. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

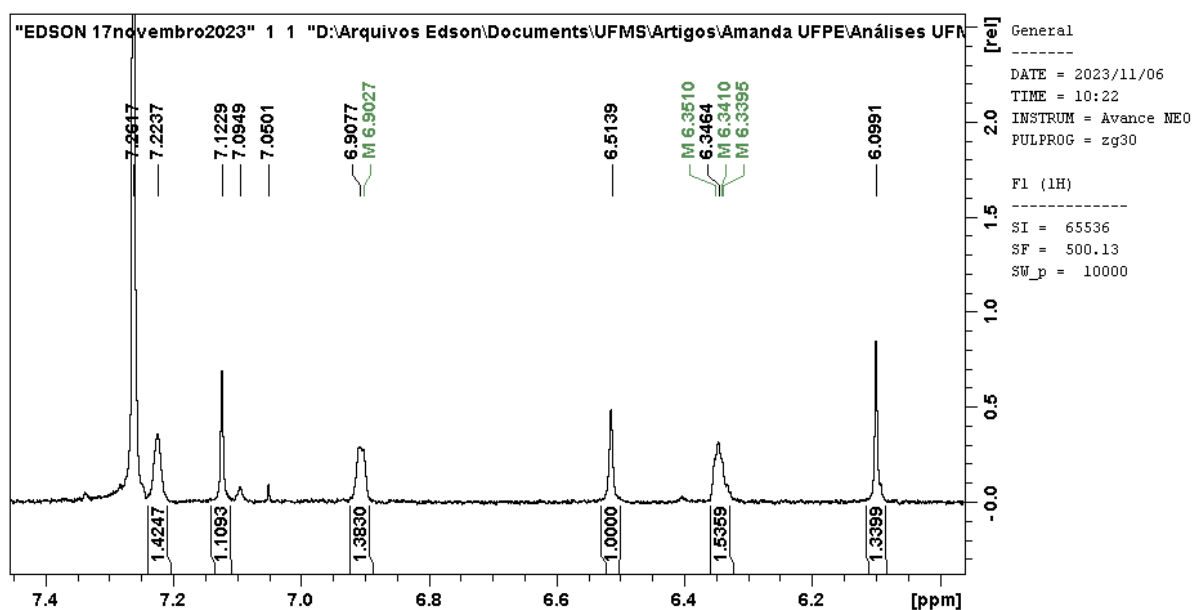


Figura 8. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

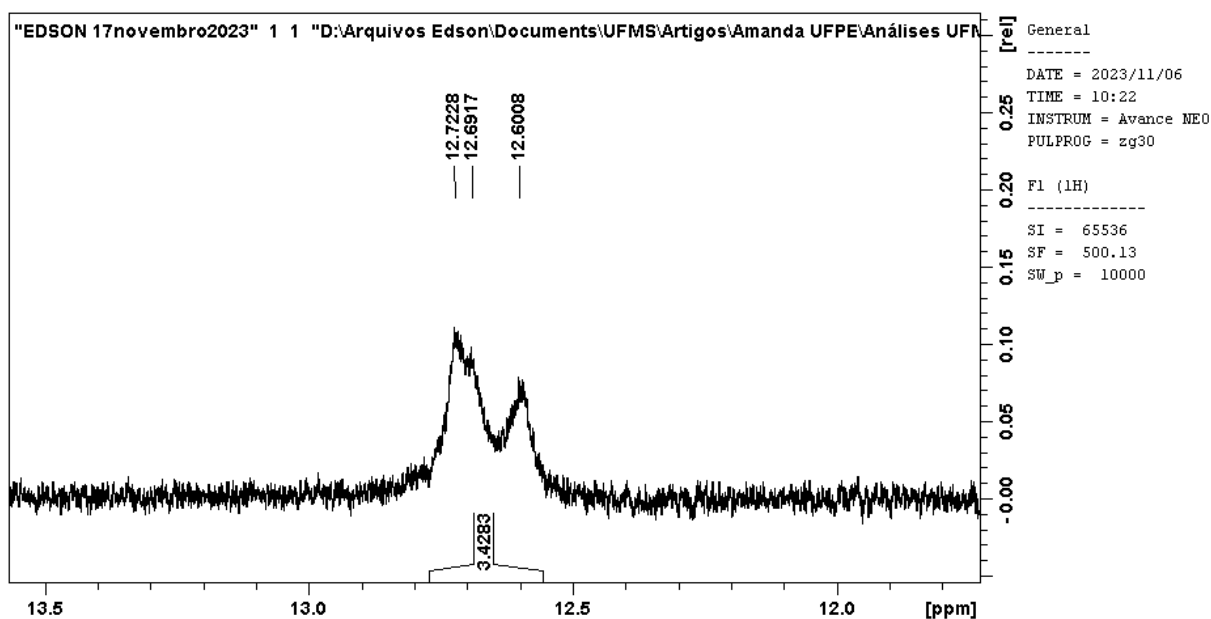


Figura 9. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

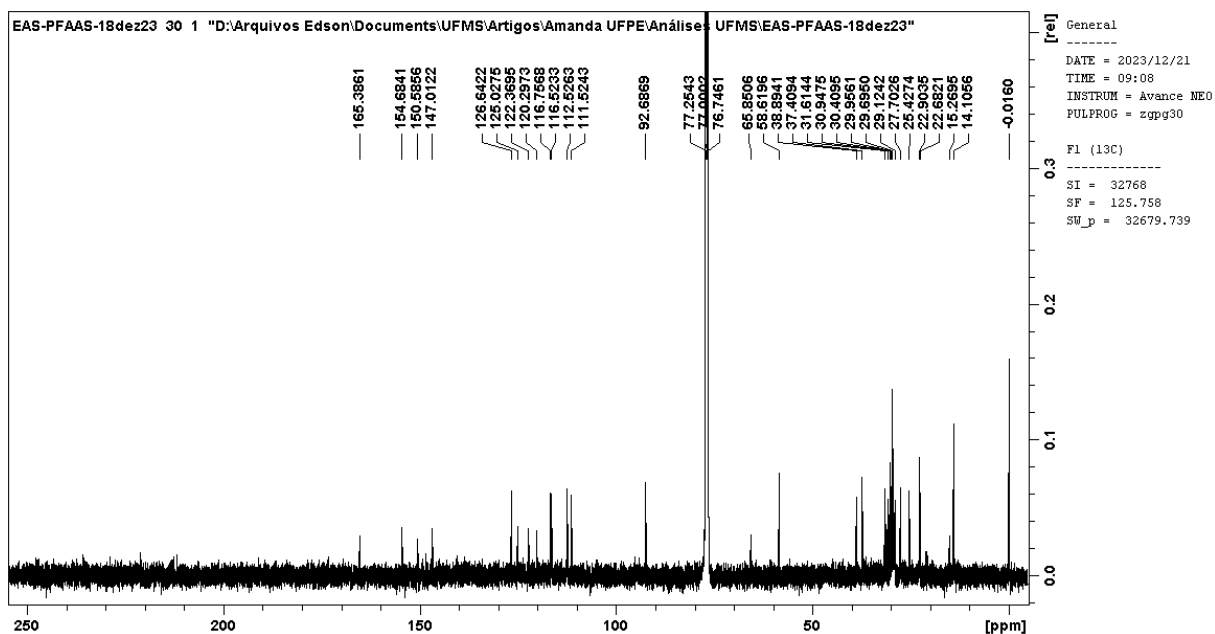


Figura 10. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

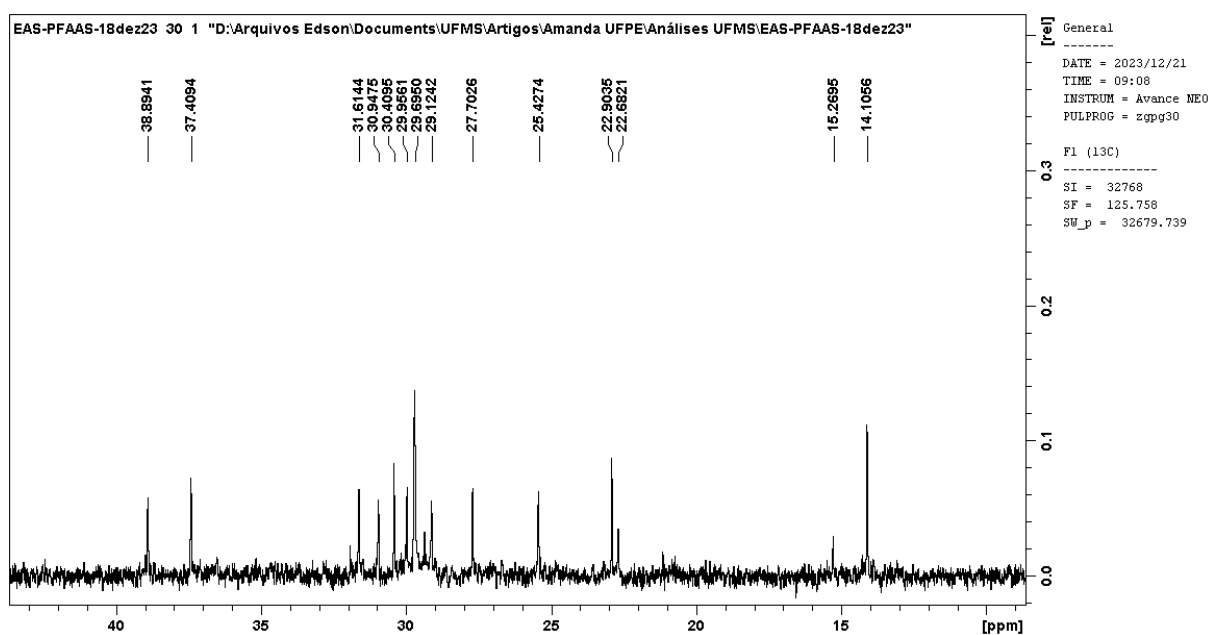


Figura 11. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

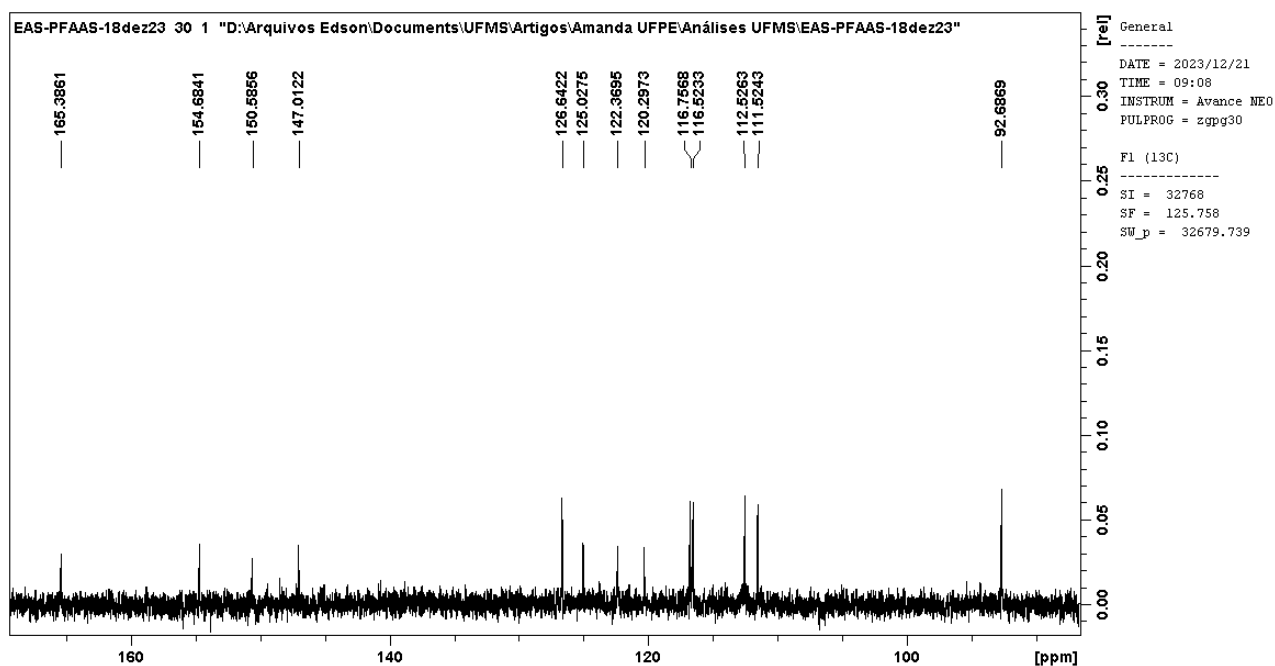


Figura 12. Espectro de HSQC da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

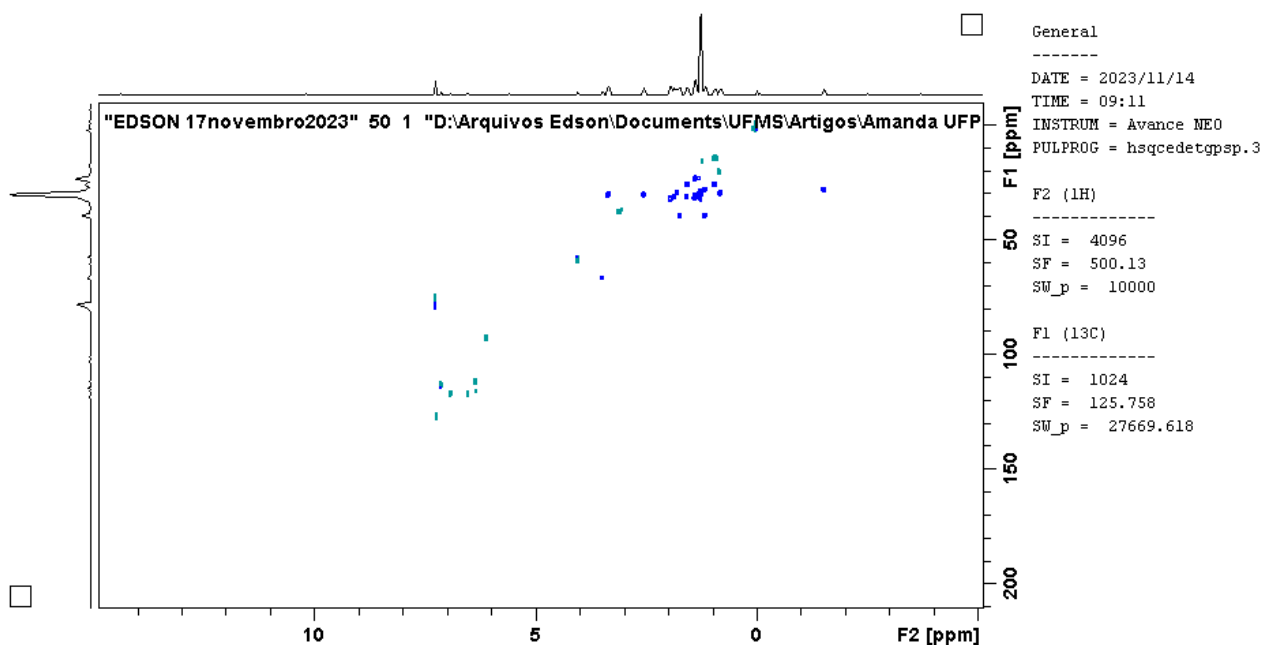


Figura 13. Ampliação do espectro de HSQC da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

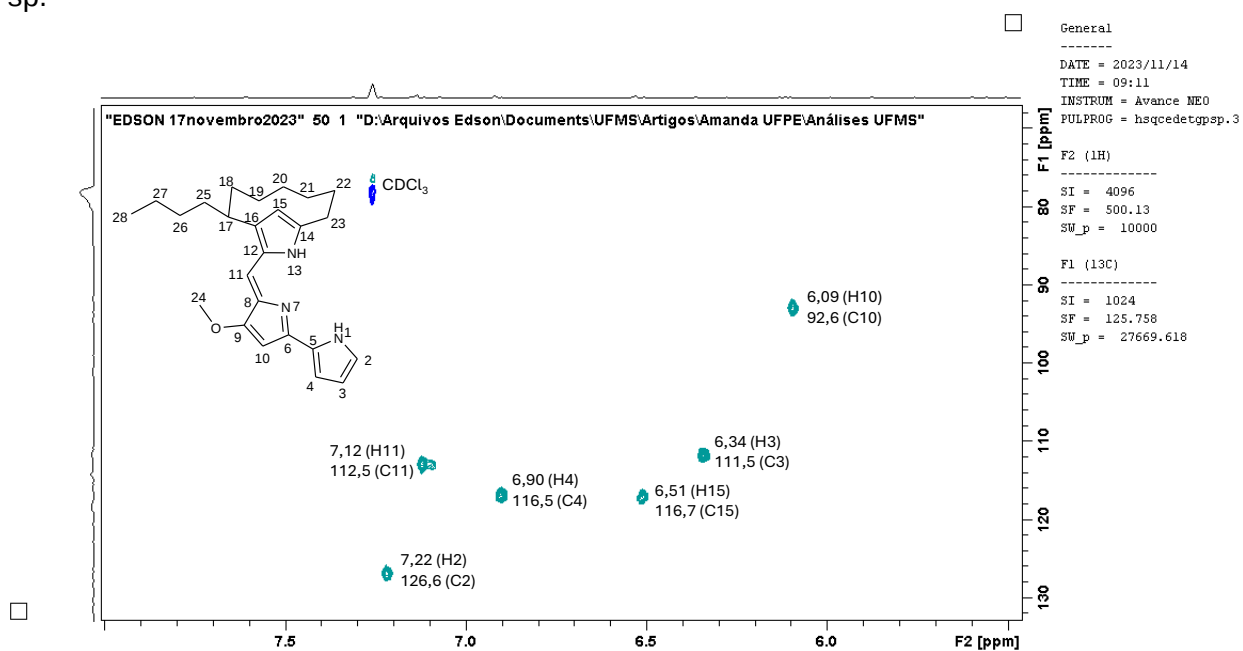


Figura 14. Ampliação do espectro de HSQC da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

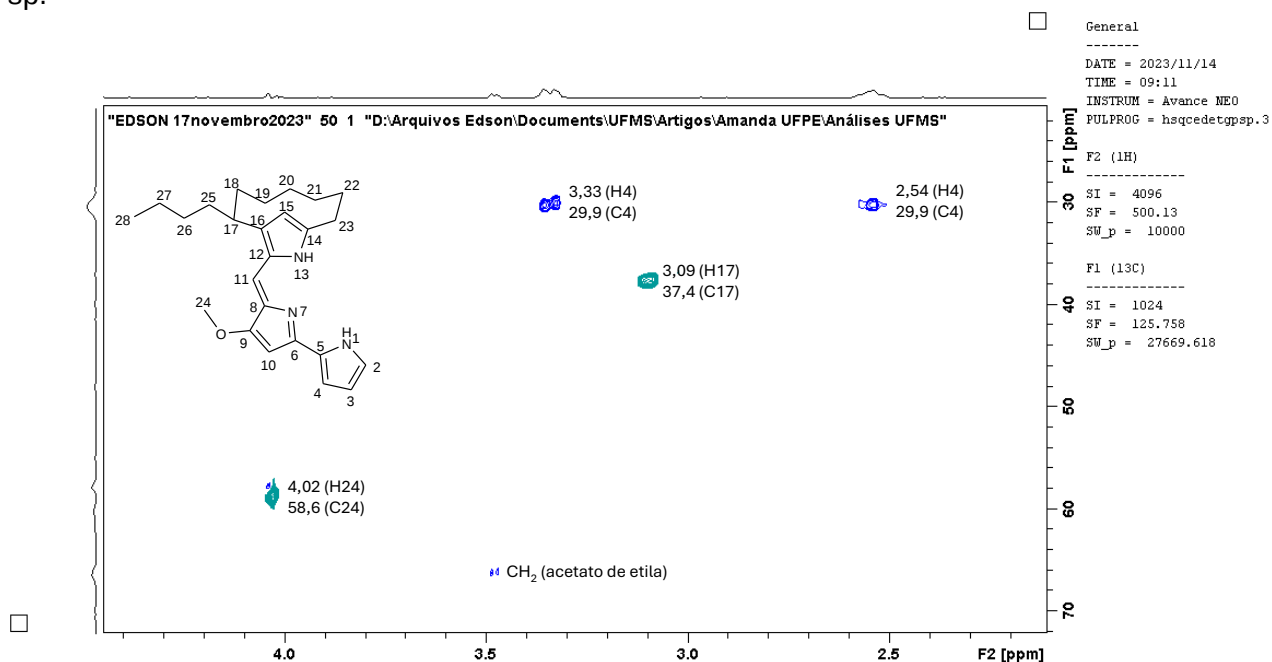


Figura 15. Ampliação do espectro de HSQC da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

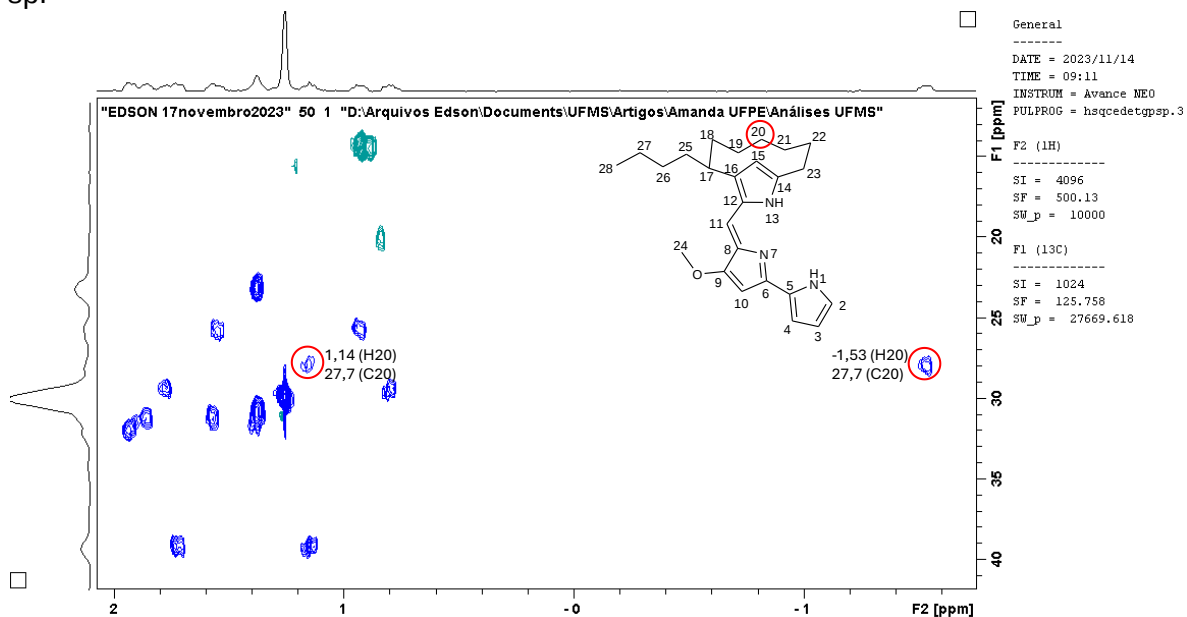


Figura 16. Ampliação do espectro de HSQC da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

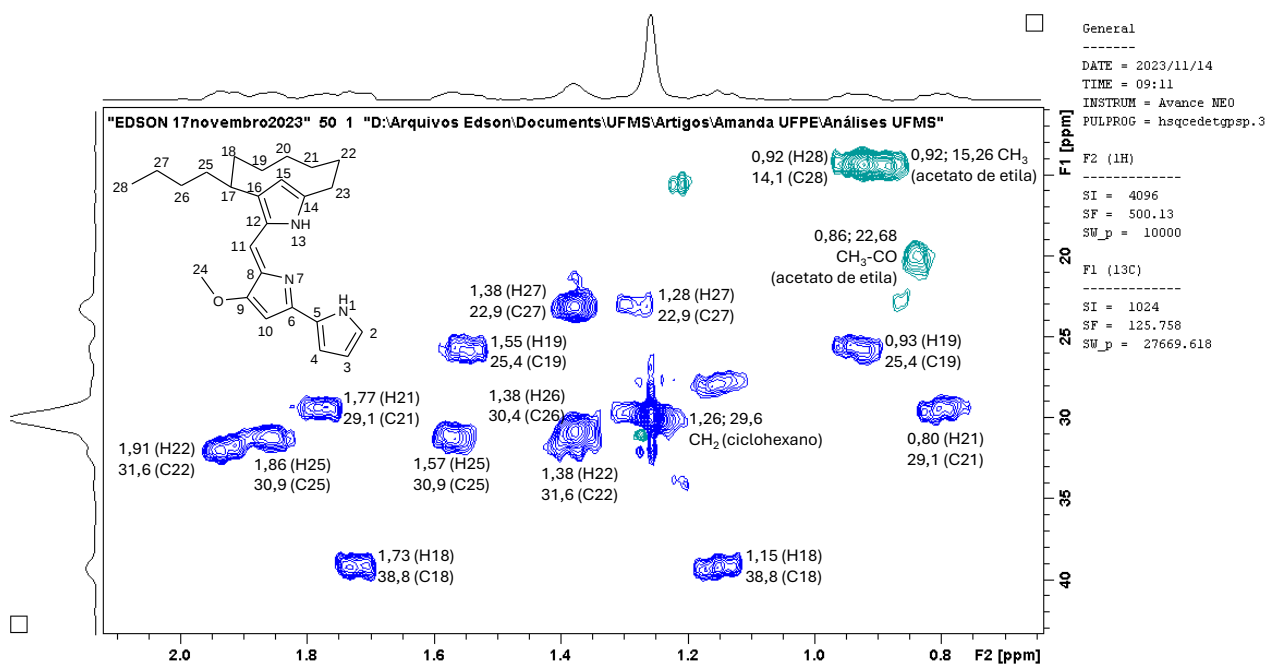


Figura 17. Espectro de HMBC da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

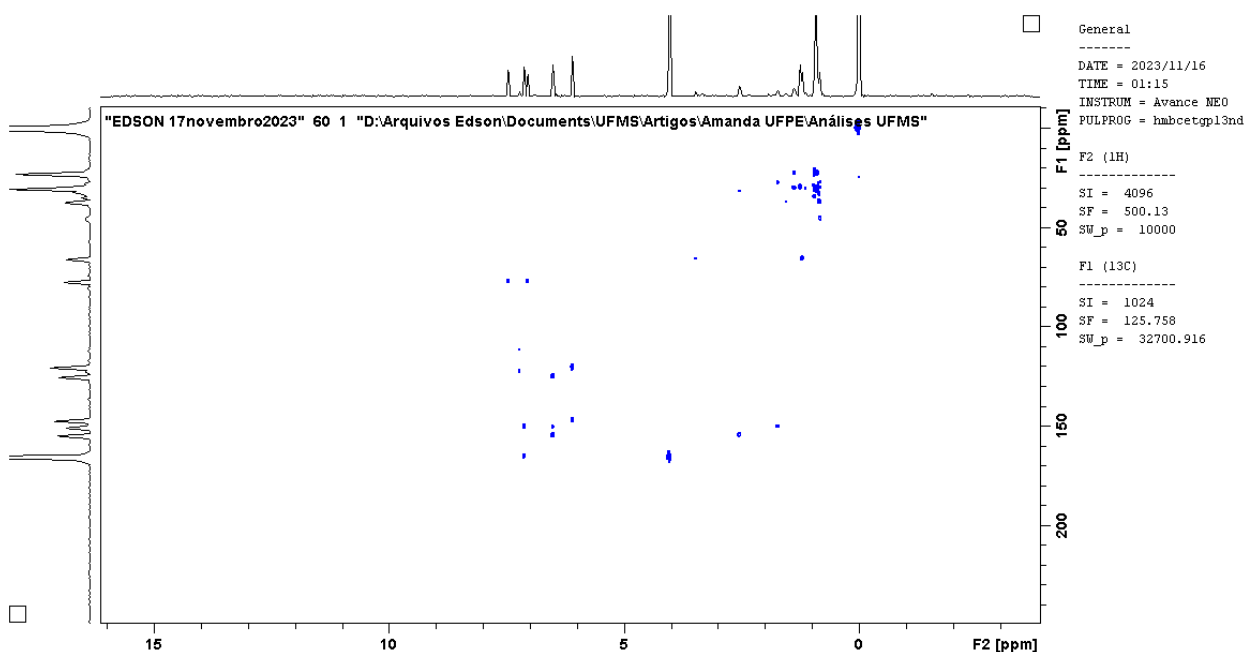


Figura 18. Ampliação do espectro de HMBC da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

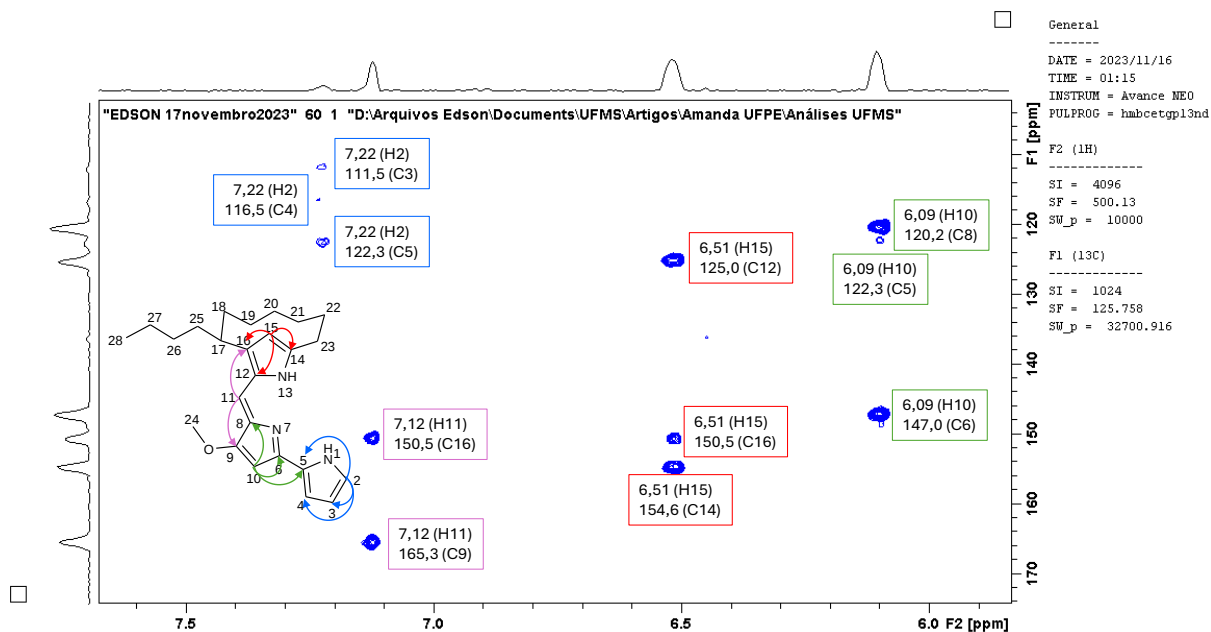


Figura 19. Ampliação do espectro de HMBC da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

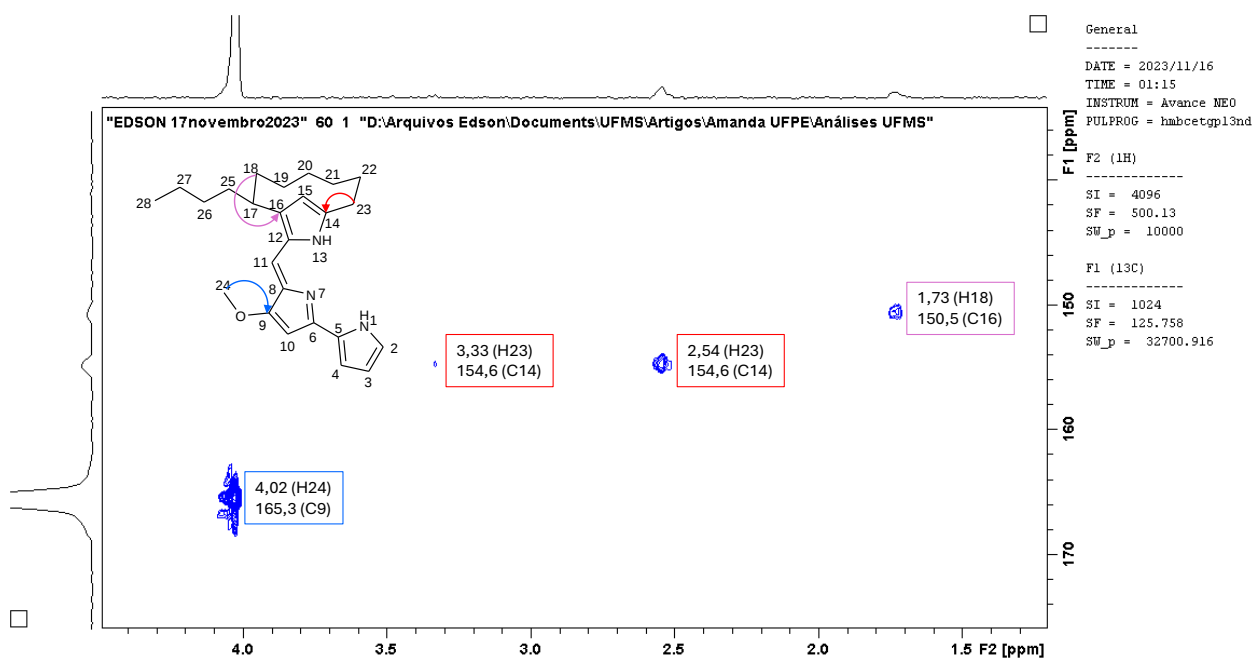


Figura 20. Ampliação do espectro de HMBC da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

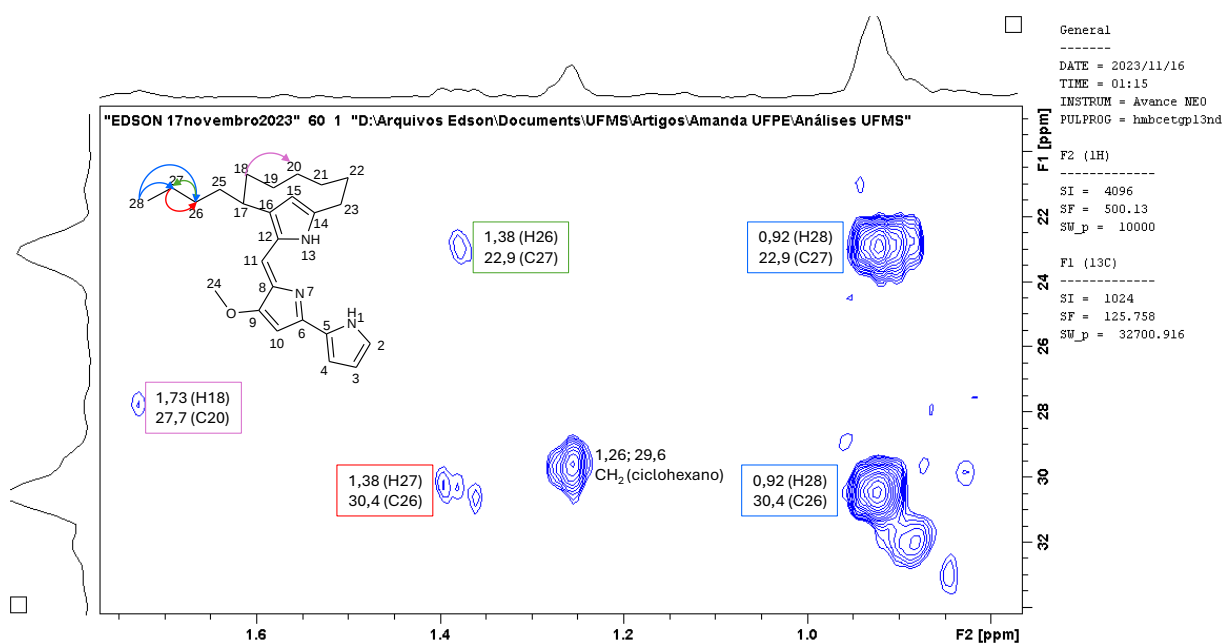


Figura 21. Ampliação do espectro de HMBC da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

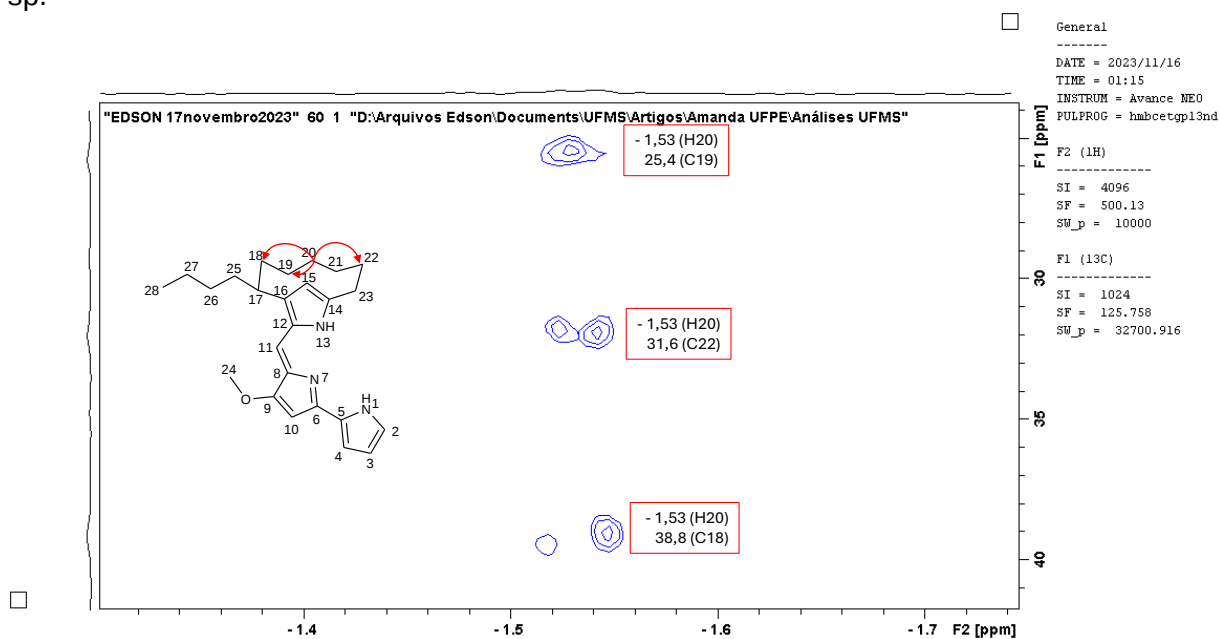


Figura 22. Espectro de COSY da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

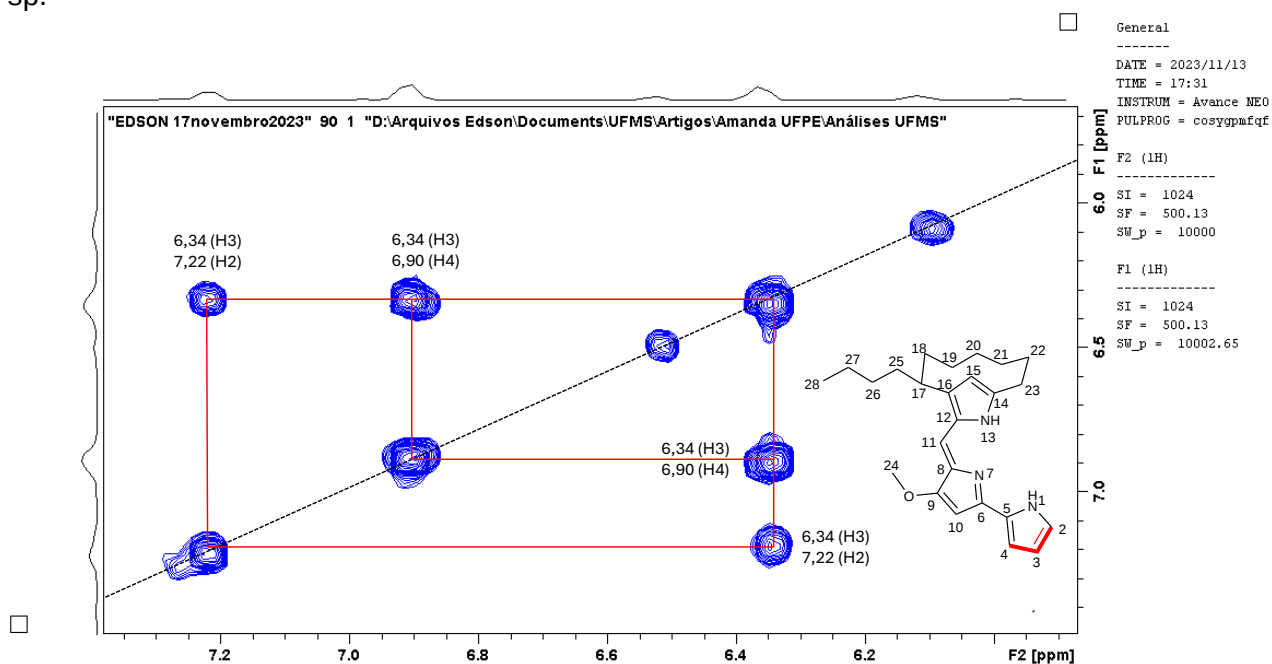


Figura 24. Ampliação do espectro de COSY da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

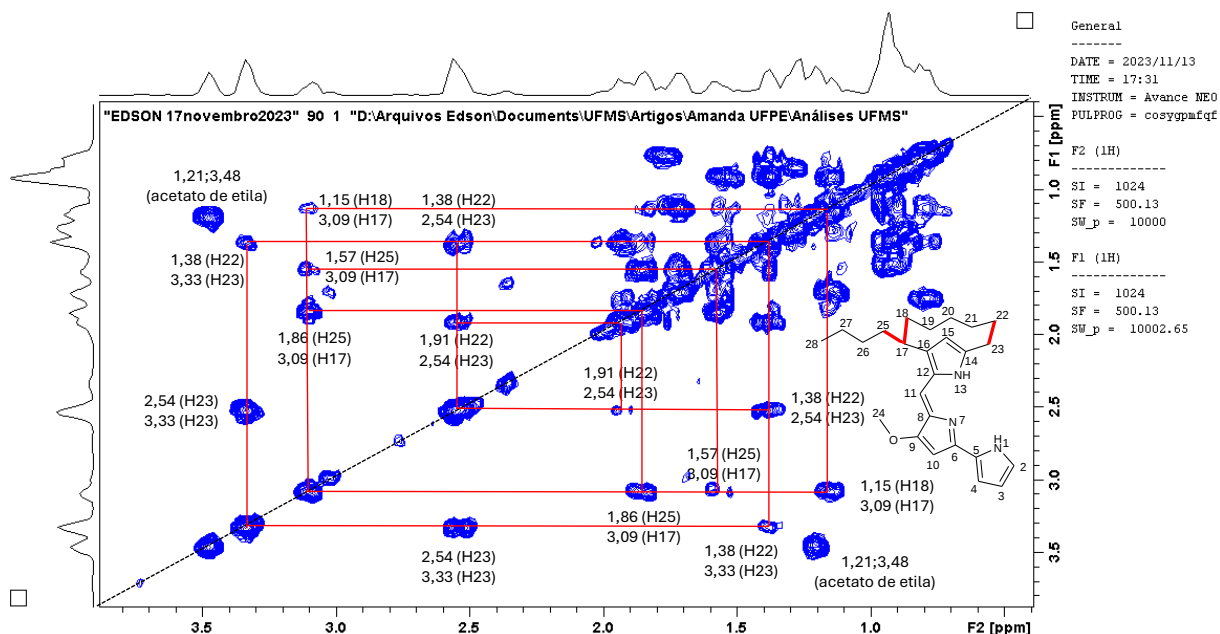


Figura 25. Ampliação do espectro de COSY da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

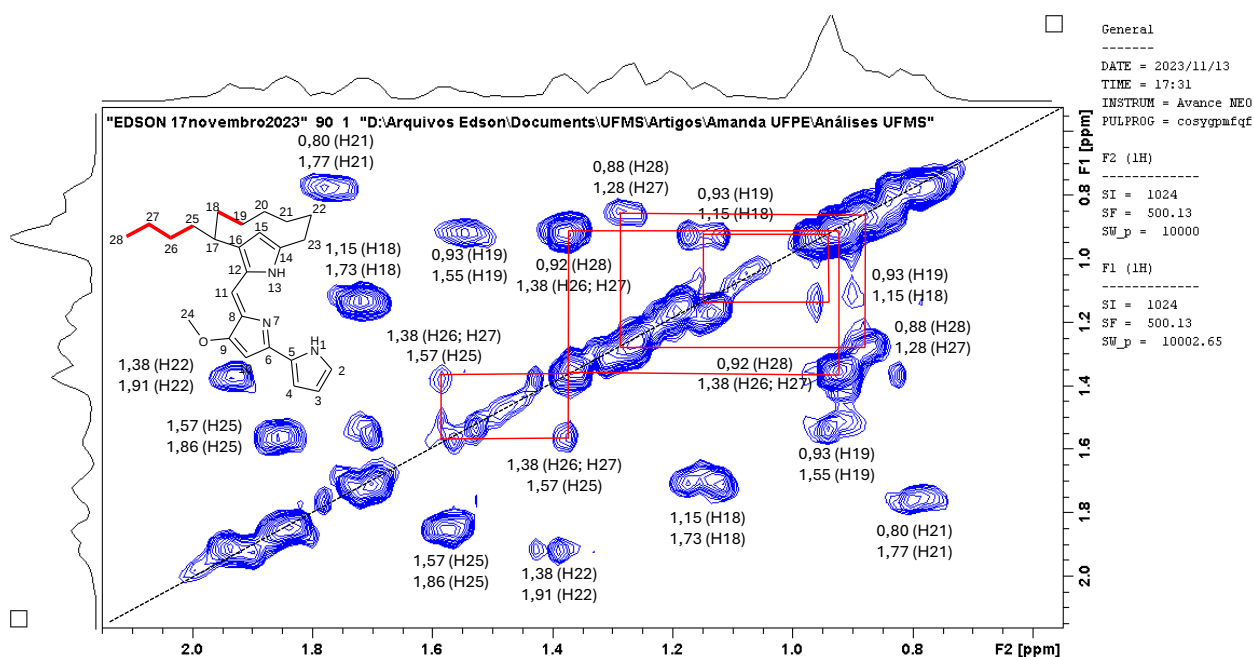


Figura 26. Ampliação do espectro de COSY da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.

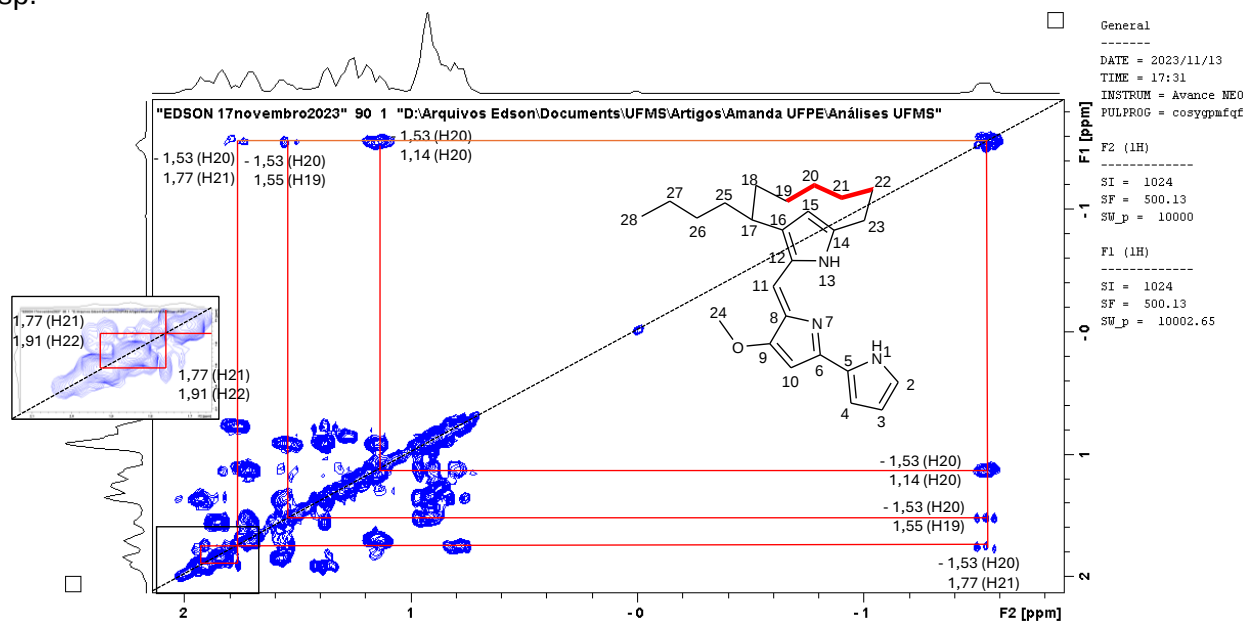
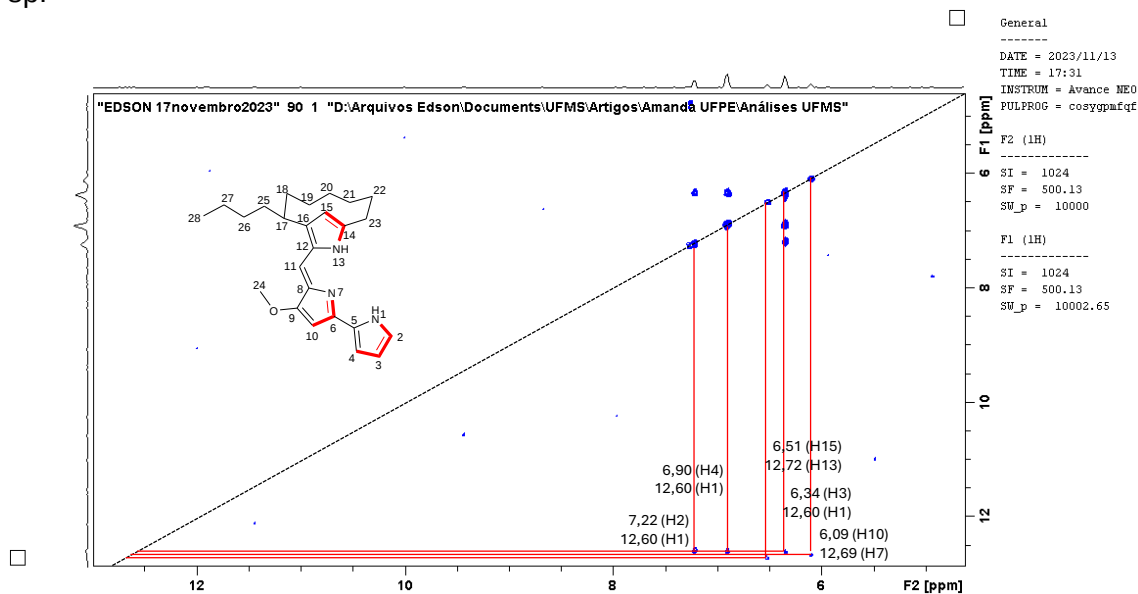


Figura 27. Ampliação do espectro de COSY da estreptorrubina B produzida por *Streptomyces* sp.



5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Streptomyces hiroshimensis UFPEDA 3134 constitui importante fonte microbiana para obtenção do pigmento vermelho estreptorrubina B, que apresenta potencial para aplicação biotecnológica.

A produção do pigmento em cultivo estático e sob agitação, representa uma alternativa importante para a obtenção destas moléculas, possibilitando a utilização de técnicas e estratégias para o melhoramento da produção.

A estreptorrubina B produzida por *S. hiroshimensis* UFPEDA 3134 apresenta propriedades físico-químicas desejáveis ao desenvolvimento de produtos de interesse comercial. A estabilidade térmica e a baixa toxicidade aguda, indicam características vantajosas que tornam o pigmento produzido pela bactéria um forte candidato a substituição de pigmentos sintéticos nas indústrias têxtil, cosmética, alimentícia, entre outras.

A sensibilidade ao pH apresentada pelo pigmento pode ser explorada em diversas aplicações, incluindo o desenvolvimento de filmes inteligentes com aplicação possível a alimentos. Do mesmo modo, a atividade antimicrobiana apresentada pelo pigmento, ainda que limitada, pode sugerir a utilização futura deste em associação com outros compostos antimicrobianos, visando a obtenção de materiais com efeitos bactericidas ou bacteriostáticos para micro-organismos como *Staphylococcus aureus*.

O efeito citotóxico e genotóxico dose dependente do pigmento fornece informações acerca das possibilidades de utilização deste composto em diferentes formulações. Concentrações inferiores a 0,1 mg/mL não apresentam danos significativos ao DNA nos modelos avaliados sugerindo que nestas concentrações, a estreptorrubina B pode ser segura para aplicações industriais e biotecnológicas.

A estreptorrubina B é uma molécula ainda pouco explorada com relação a seu potencial, dessa forma estudos aprofundados de suas propriedades e aplicações trazem informações importantes para sua utilização. As propriedades apresentadas por estreptorrubina B nesta pesquisa revelam que este pigmento pode ser amplamente explorado quando a suas potencialidades.

A produção de pigmentos por micro-organismos é uma ferramenta viável e importante para atender as demandas comerciais, considerando a passividade destes organismos a utilização de técnicas de melhoramento da produção e obtenção destes biopigmentos.

6. SÚMULA CURRICULAR

Artigos

Artigo 1

Título: **Além da Cor: Biossíntese, Funções e Aplicações Biotecnológicas das Prodigininas – uma revisão**

Revista: Microbiological Research

Qualis CAPES: A2

Fator de Impacto: 6.1

Formato: Revisão

Situação: Submetido

Artigo 2

Título: **PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ESTREPTORRUBINA B DE *STREPTOMYCES HIROSHIMENSIS*: PROPRIEDADES BIOATIVAS E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO**

Revista: Dyes and Pigments

Qualis CAPES: A1

Fator de Impacto: 4.1

Formato: Artigo Original

Situação: A ser submetido

Participação em bancas de TCC

Aluno: Gabriel Santos da Silva

Curso: Bacharelado em Ciências Biológicas (Ambientais)

Condição: Membro titular

Co-Orientações de TCC

Aluno: Luís Eduardo Carvalho de Lacerda

Curso: Bacharelado em Ciências Biológicas (Ambientais)

Título do Trabalho: *“Melaleuca alternifolia e Mentha piperita frente a bactérias Gram negativas uma revisão de literatura”*

Ano: 2021

Aluno: Paulo Henrique Pessoa Martins

Curso: Bacharelado em Ciências Biológicas (Ambientais)

Título do Trabalho: *“Produção de pigmentos por Kribbella swartbergensis UFPEDA 3417”*

Ano: 2021

Aluno: Kássia Dos Santos Silva

Curso: Biomedicina

Título do Trabalho: *“Streptococcus agalactiae COMO AGENTE CAUSADOR DE DOENÇA NEONATAL INVASIVA: UMA REVISÃO”*

Ano: 2024

Aluno: Rafael Gomes Dantas

Curso: Biomedicina

Título do Trabalho: *“Streptococcus pyogenes: Distribuição do gene emm e*

manifestações clínicas – Revisão”
Ano: 2024

Coautoria de Capítulo de Livro

Livro: Candidíase e Resistência Fúngica
Organizadores: Otacílio Santana, Paulo Filho, Isabella Cavalcanti e Adriana Fontes
ISBN: 978-65-5889-554-1
Doi: 10.46898/rfb.2394dc3b-41a3-4472-a622-0ff65ad2baf0

Patente

Título da invenção: Nanomaterial conjugado de NPsAg-Alginato@(EDC/NHS) apresentando atividade antifúngica frente e espécies de *Candida*.
Número do processo: BR 10 2023 017849 9

Avaliador de Trabalhos Científicos
Evento: Feira Nordestina de Ciência e Tecnologia (FENECIT 19)
Carga horária: 20 horas

REFERÊNCIAS

ABDELMOHSEN, U. R.; BAYER, K.; HENTSCHEL, U. Diversity, abundance and natural products of marine sponge-associated actinomycetes. **Natural product reports**, v. 31, n. 3, p. 381-399, 2014.

AFRA, S., MAKHDOUMI, A., MATIN, M. M., & FEIZY, J. A novel red pigment from marine *Arthrobacter* sp. G20 with specific anticancer activity. **Journal of applied microbiology**, v. 123, n. 5, p. 1228-1236, 2017.

AFROZ TOMA, M., RAHMAN, M. H., RAHMAN, M. S., ARIF, M., NAZIR, K. N. H., & DUFOSSÉ, L. Fungal Pigments: Carotenoids, Riboflavin, and Polyketides with Diverse Applications. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 4, p. 454, 2023.

AGARWAL, H., BAJPAI, S., MISHRA, A., KOHLI, I., VARMA, A., FOUILLAUD, M., ... & JOSHI, N. C. Bacterial Pigments and Their Multifaceted Roles in Contemporary Biotechnology and Pharmacological Applications. **Microorganisms**, v. 11, n. 3, p. 614, 2023.

AHN, Y. J.; KIM, H., Lutein as a modulator of oxidative stress-mediated inflammatory diseases. **Antioxidants**, v. 10, n. 9, p. 1448, 2021.

ALCOCK, B. P., RAPHENYA, A. R., LAU, T. T., TSANG, K. K., BOUCHARD, M., EDALATMAND, A., ... & MCARTHUR, A. G., CARD 2020: Antibiotic resistome surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database. **Nucleic acids research**, v. 48, n. D1, p. D517-D525, 2020.

ALI, A., ALLARAKHA, S., FATIMA, S., ALI, S. A., & HABIB, S., Risk of Carcinogenicity Associated with Synthetic Hair Dyeing Formulations: A Biochemical View on Action Mechanisms, Genetic Variation and Prevention. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 4, p. 399-409, 2022.

ALUGOJU, P., KRISHNA SWAMY, V. K. D., ANTHIKAPALLI, N. V. A., & TENCOMNAO, T. Health benefits of astaxanthin against age-related diseases of multiple organs: A comprehensive review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-66, 2022.

ALZAHIRANI, N. H., EI-BONDKLY, A. A. M., EI-GENDY, M. M. A. A., & EI-BONDKLY, A. M. Enhancement of undecylprodigiosin production from marine endophytic recombinant strain *Streptomyces* sp. ALAA-R20 through low-cost induction strategy. **Journal of Applied Genetics**, v. 62, 165-182, 2021.

AMAN MOHAMMADI, M., AHANGARI, H., MOUSAZADEH, S., HOSSEINI, S. M., & DUFOSSÉ, L. Microbial pigments as an alternative to synthetic dyes and food additives: A brief review of recent studies. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 45, n. 1, p. 1-12, 2022.

ANWAR, M. M., ALBANESE, C., HAMDY, N. M., & SULTAN, A. S. Rise of the natural red pigment 'prodigiosin' as an immunomodulator in cancer. **Cancer Cell International**, v. 22 n. 1, 419, 2022.

ARIVIZHIVENDHAN, K. V., MAHESH, M., BOOPATHY, R., SWARNALATHA, S.,

REGINA MARY, R., & SEKARAN, G. Antioxidant and antimicrobial activity of bioactive prodigiosin produces from *Serratia marcescens* using agricultural waste as a substrate. **Journal of food science and technology**, v. 55, 2661-2670, 2018.

ARSHADI, Z., HOSSEINI, S. A., FATEHI, D., MIRZAEI, S. A., & ELAHIAN, F. Butylcycloheptylprodigiosin and undecylprodigiosin are potential photosensitizer candidates for photodynamic cancer therapy. **Molecular Biology Reports**, v. 48, 5965-5975, 2021.

BARKA, E. A., VATSA, P., SANCHEZ, L., GAVEAU-VAILLANT, N., JACQUARD, C., KLENK, H. P., ... & van WEZEL, G. P. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, v. 80, n.1, 1-43, 2016.

BARRETO, J. V. D. O., CASANOVA, L. M., JUNIOR, A. N., REIS-MANSUR, M. C. P. P., & VERMELHO, A. B. Microbial pigments: major groups and industrial applications. **Microorganisms**, v. 11 n. 12, 2920, 2023.

BASHIR, S., NUMAN, M., & SHINWARI, Z. K. (2022). Selective Isolation of Bioactive-Pigmented Bacteria from Saline Agricultural Soil and Assessment of Their Antimicrobial Potential against Plant Pathogens. **Sustainability**, v. 14 n. 20, 13574.

BASTO, B., da SILVA, N. R., TEIXEIRA, J. A., & SILVÉRIO, S. C., Production of natural pigments by *Penicillium brevicompactum* using agro-industrial byproducts. **Fermentation**, v. 8, n. 10, p. 536, 2022.

BATISTA, J. J., de ARAÚJO, H. D. A., de ALBUQUERQUE AGUIAR, T. W., de OLIVEIRA FERREIRA, S. A., de VASCONCELOS LIMA, M., PEREIRA, D. R., ... & COELHO, L. C. B. B. Toxic, cytotoxic and genotoxic effect of saline extract and fraction of *Parkia pendula* seeds in the developmental stages of *Biomphalaria glabrata* (Say 1818–intermediate host) and cercaricide activity against the infectious agent of schistosomiasis. *Acta Tropica*, 228, 106312, 2022.

BERNING, L., SCHLÜTERMANN, D., FRIEDRICH, A., BERLETH, N., SUN, Y., Wu, W., ... & STORK, B. Prodigiosin sensitizes sensitive and resistant urothelial carcinoma cells to cisplatin treatment. *Molecules*, 26(5), 1294, 2021.

BHAKYASHREE, K.; KANNABIRAN, K., Pharmaceutical and biotechnological importance of actinobacterial products. **Pharmaceutical Education and Research**, v. 54, n. 4, p. 858-864, 2020.

BHAVIKATTI, J. S., BODDUCHARL, S. M., KAMAGOND, R. S., DESAI, S. V., & SHET, A. R., Statistical optimisation of protease production using a freshwater bacterium *Chryseobacterium cucumeris* SARJS-2 for multiple industrial applications. **3 Biotech**, v. 10, n. 6, p. 279, 2020.

BRANCO, P. C., PONTES, C. A., Rezende-Teixeira, P., Amengual-Rigo, P., ALVES-FERNANDES, D. K., MARIA-ENGLER, S. S., ... & COSTA-LOTUFO, L. V. Survivin modulation in the antimelanoma activity of prodiginines. **European Journal of Pharmacology**, v. 888, 173465, 2020.

BRANDNER, L., & MÜLLER, T. J. Multicomponent synthesis of chromophores—The one-pot approach to functional π -systems. **Frontiers in Chemistry**, v. 11, 1124209, 2023.

BRASIL. Lei nº 11.794, de 08 de agosto de 2008. Diário Oficial da União, 09 out. de 2008. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm. Acesso em 20 janeiro de 2025.

BRASIL. Resolução nº 54, de 10 de janeiro de 2022. Diário Oficial da União seção 1, Brasília, DF, edição 11, 17 jan. de 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-normativa-concea-n-54-de-10-de-janeiro-de-2022-374148642>. Acesso em 30 janeiro de 2025.

BRASIL. Resolução nº 58, de 23 de fevereiro de 2023. Diário Oficial da União seção 1, Brasília, DF, 01 março de 2023. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-n-58-de-24-de-fevereiro-de-2023-466792333>. Acesso em 20 janeiro de 2025.

BU, Q. T., LI, Y. P., XIE, H., LI, J. F., LV, Z. Y., SU, Y. T., & LI, Y. Q., Rational engineering strategies for achieving high-yield, high-quality and high-stability of natural product production in actinomycetes. **Metabolic Engineering**, v. 67, p. 198-215, 2021.

CAO, Y., YANG, L., QIAO, X., XUE, C., & XU, J., Dietary astaxanthin: An excellent carotenoid with multiple health benefits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-27, 2021.

CHAMPION, O. L.; TITBALL, R. W.; BATES, S., Standardization of *G. mellonella* larvae to provide reliable and reproducible results in the study of fungal pathogens. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 3, p. 108, 2018.

CHATRAGADDA, R.; DUFOSSÉ, L., Ecological and biotechnological aspects of pigmented microbes: A way forward in development of food and pharmaceutical grade pigments. **Microorganisms**, v. 9, n. 3, p. 637, 2021.

CHEN, J., ZHAI, W., Li, Y., GUO, Y., ZHU, Y., LEI, G., & LI, J., Enhancing the biomass and riboflavin production of *Ashbya gossypii* by using low-intensity ultrasound stimulation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 181, p. 108394, 2022.

CHEN, X., YAN, J., CHEN, J., GUI, R., WU, Y., & LI, N., Potato pomace: An efficient resource for *Monascus* pigments production through solid-state fermentation. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 132, n. 2, p. 167-173, 2021a.

CHEN, M., LI, M., YE, L., & YU, H., Construction of canthaxanthin-producing yeast by combining spatiotemporal regulation and pleiotropic drug resistance engineering. **ACS Synthetic Biology**, v. 11, n. 1, p. 325-333, 2021b.

CHENG, S.; PEI, Y.; ZENG, Y., Cosmetic Ingredient: Metabolism and Mechanism. **Highlights in Science, Engineering and Technology**, v. 6, p. 74-82, 2022.

CHILAKAMARRY, C. R., SAKINAH, A. M., ZULARISAM, A. W., SIROHI, R., KHILJI, I. A., AHMAD, N., & PANDEY, A., Advances in solid-state fermentation for bioconversion of agricultural wastes to value-added products: Opportunities and challenges. **Bioresource technology**, v. 343, p. 126065, 2022.

CHINNAPPA, B., PONGEN, Y. L., RAMASAMY, V., VINAYAGAM, S., GNANASEKARAN, L., SUNDARAM, T., & DURAIRAJ, T. Harnessing the potential of marine actinobacterial biomass for bioactive pigments: Sustainable innovation for cosmetic formulation. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 1-13, 2024.

CHOE, D.. Microbe-derived antimicrobial red pigments for color formation and microbial growth control in sausage: A mini-review. **Food Science and Preservation**, 29(6), 837-851, 2022.

CHOI, S. Y., LIM, S., YOON, K. H., LEE, J. I., & MITCHELL, R. J., Biotechnological activities and applications of bacterial pigments violacein and prodigiosin. **Journal of Biological Engineering**, v. 15, n. 1, p. 1-16, 2021.

de OLIVEIRA, J. R., A utilização dos pigmentos naturais no ensino de artes visuais: uma revisão bibliográfica. **Revista Thema**, v. 21, n. 4, p. 1089-1096, 2022.

de SIQUEIRA, W. N., de FRANÇA, E. J., PEREIRA, D. R., LIMA, M. D. V., SILVA, H. A. M. F., Sá, J. L. F., ... & MELO, A. M. M. D. A. Toxicity and genotoxicity of domestic sewage sludge in the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, 69343-69353, 2021.

DING, J., WU, B., & CHEN, L., Application of marine microbial natural products in cosmetics. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 892505, 2022.

DING, Ting et al. The secondary metabolites of rare actinomycetes: chemistry and bioactivity. **RSC advances**, v. 9, n. 38, p. 21964-21988, 2019.

DONALD, L., PIPITE, A., SUBRAMANI, R., OWEN, J., KEYZERS, R. A., & TAUFA, T., Streptomyces: Still the biggest producer of new natural secondary metabolites, a current perspective. **Microbiology Research**, v. 13, n. 3, p. 418-465, 2022.

DUFOSSÉ, L. Microbial pigments from bacteria, yeasts, fungi, and microalgae for the food and feed industries. In: **Natural and artificial flavoring agents and food dyes**. Academic Press, 2018. p. 113-132.

EHRENKAUFER, G., Li, P., STEBBINS, E. E., KANGUSSU-MARCOLINO, M. M., DEBNATH, A., WHITE, C. V., ... & SINGH, U., Identification of anisomycin, prodigiosin and obatoclax as compounds with broad-spectrum anti-parasitic activity. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 14, n. 3, p. e0008150, 2020.

ESKIN, A.; ÖZTÜRK, Ş.; KÖRÜKÇÜ, M. Determination of the acute toxic effects of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) in total hemocytes counts of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) with two different methods. **Ecotoxicology**, v. 28, p. 801-808, 2019.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LLEDÓ, V.; ANGOSTO, J. M., New insights into red plant pigments: More than just natural colorants. **RSC advances**, v. 10, n. 41, p. 24669-24682, 2020.

FIRACATIVE, C., KHAN, A., DUAN, S., FERREIRA-PAIM, K., LEEMON, D., & MEYER, W., Rearing and maintenance of *Galleria mellonella* and its application to study fungal virulence. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 3, p. 130, 2020.

GACEM, M. A., OULD-EL-HADJ-KHELIL, A., BOUDJEMAA, B., & WINK, J. Antimicrobial and antioxidant effects of a forest actinobacterium V 002 as new producer of spectinabilin, undecylprodigiosin and metacycloprodigiosin. **Current microbiology**, v. 77, 2575-2583, 2020.

GAZZOLO, D., PICONE, S., GAIERO, A., BELLETTATO, M., MONTRONE, G., RICCOBENE, F., ... & PELLEGRINI, G., Early pediatric benefit of lutein for maturing eyes and brain—an overview. **Nutrients**, v. 13, n. 9, p. 3239, 2021.

GHATTAVI, K., HOMAEI, A., KAMRANI, E., & KIM, S. K. Melanin pigment derived from marine organisms and its industrial applications. **Dyes and Pigments**, v. 201, p. 110214, 2022.

GHOSH, S., SARKAR, T., DAS, A., & CHAKRABORTY, R., Natural colorants from plant pigments and their encapsulation: An emerging window for the food industry. **Lwt**, v. 153, p. 112527, 2022.

GOHAIN, A., MANPOONG, C., SAIKIA, R., & De MANDAL, S., Actinobacteria: Diversity and biotechnological applications. **Recent advancements in microbial diversity**, p. 217-231, 2020.

GOODFELLOW, M., KÄMPFER, P., BUSSE, H. J., TRUJILLO, M. E., SUZUKI, K. I., LUDWIG, W., WHITMAN, W. B. **Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume Five The Actinobacteria, Part A**. Springer New York, 2012.

Cosmetic Pigments Market Size in **Grand View Research**. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/cosmetic-pigments-market-report>. Acesso em: 25 jan. 2025

GREWAL, J., WOŁĄCEWICZ, M., PYTER, W., JOSHI, N., DREWNIAK, L., & PRANAW, K., Colorful treasure from agro-industrial wastes: A sustainable chassis for microbial pigment production. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 89, 2022.

HABASH, S. S., BRASS, H. U., KLEIN, A. S., KLEBL, D. P., WEBER, T. M., CLASSEN, T., ... & SCHLEKER, A. S. S. Novel prodiginine derivatives demonstrate bioactivities on plants, nematodes, and fungi. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 579807, 2020.

HABIBI, A., FALLAHI, S., ABBASI, S., & SHARIFI, R., Batch and Fed-Batch Production of β -carotene by *Rhodotorula Toruloides* KP324973 Using Corn Steep Liquor As Sole Carbon Source. **Research Square**, 2021.

HAN, R., XIANG, R., LI, J., WANG, F., & WANG, C. (2021). High-level production of microbial

prodigiosin: A review. **Journal of Basic Microbiology**, 61(6), 506-523.

HARVEY, P. J.; BEN-AMOTZ, A. Towards a sustainable *Dunaliella salina* microalgal biorefinery for 9-cis β -carotene production. **Algal Research**, v. 50, p. 102002, 2020.

HERRÁEZ, R., QUESADA, R., DAHDAH, N., VIÑAS, M., & VINUESA, T; Tambjamines and prodiginines: Biocidal activity against *Trypanosoma cruzi*. **Pharmaceutics**, v. 13 n. 5, 705, 2021.

HOLME, I.; Sir William Henry Perkin: a review of his life, work and legacy. **Coloration Technology**, v. 122, n. 5, p. 235-251, 2006.

HUANG, W., NIU, Y., Li, Y., ZHANG, D., JIANG, Y., ZHANG, H., ... & LIANG, Z., Effects of Free Amino Acids, Metallothionein, and Chemical Forms of Heavy Metals on the Accumulation and Detoxification of Cadmium and Chromium in Chinese Goldthread (*Coptis chinensis* Franch.). **Journal of Sensors**, v. 2022, 2022.

HUANG, Z., DONG, L., LAI, Q., & LIU, J., *Spartinivacinus ruber* gen. nov., sp. nov., a novel marine gammaproteobacterium producing heptylprodigiosin and cycloheptylprodigiosin as major red pigments. **Frontiers in microbiology**, v. 11, 2056, 2020.

HUNT, P. R.; CAMACHO, J. A.; SPRANDO, R. L. *Caenorhabditis elegans* for predictive toxicology. **Current Opinion in Toxicology**, v. 23, p. 23-28, 2020.

IBRAHIM, G. S., ABDELHAMID, S. A., ELMANSY, E. A., ASKER, M. M., & FATMA, N. Red pigment from isolated *Serratia marcescens* SEM: Structure, antimicrobial and antioxidant activity. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 54, 102932, 2023.

IGREJA, W. S., MAIA, F. D. A., LOPES, A. S., & CHISTÉ, R. C., Biotechnological production of carotenoids using low cost-substrates is influenced by cultivation parameters: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 16, p. 8819, 2021.

JAMRÓZ, E.; KOPEL, P. Polysaccharide and protein films with antimicrobial/antioxidant activity in the food industry: A review. **Polymers**, v. 12, n. 6, p. 1289, 2020.

JORJÃO, A. L., OLIVEIRA, L. D., SCORZONI, L., FIGUEIREDO-GODOI, L. M. A., CRISTINA A. PRATA, M., JORGE, A. O. C., & Junqueira, J. C. From moths to caterpillars: Ideal conditions for *Galleria mellonella* rearing for in vivo microbiological studies. **Virulence**, v. 9, n. 1, p. 383-389, 2018.

KANCHARLA, P., LI, Y., YELUGURI, M., DODEAN, R. A., REYNOLDS, K. A., & KELLY, J. X. Total synthesis and antimalarial activity of 2-(p-hydroxybenzyl)-prodigiosins, isoheptylprodigiosin, and geometric isomers of tambjamine MYP1 isolated from marine bacteria. **Journal of medicinal chemistry**, v. 64 n. 12, 8739-8754, 2021.

KARIMI, F., MAZAHARI, D., SAEI MOGHADDAM, M., MATAEI MOGHADDAM, A., SANATI, A. L., & OROOJI, Y., Solid-state fermentation as an alternative technology for cost-effective production of bioethanol as useful renewable energy: a review. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-17, 2021.

KAVANAGH, K.; REEVES, E. P., Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens. **FEMS microbiology reviews**, v. 28, n. 1, p. 101-112, 2004.

KHAN, U. M., SEVINDIK, M., ZARRABI, A., NAMI, M., OZDEMIR, B., KAPLAN, D. N., ... & SHARIFI-RAD, J., Lycopene: Food sources, biological activities, and human health benefits. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021, 2021.

KIKI, M. J., Biopigments of Microbial Origin and Their Application in the Cosmetic Industry. **Cosmetics**, v. 10, n. 2, p. 47, 2023.

KRAMAR, A.; KOSTIC, M. M. Bacterial secondary metabolites as biopigments for textile dyeing. **Textiles**, v. 2, n. 2, p. 252-264, 2022.

LARSSON, D. G J.; FLACH, C. F., Antibiotic resistance in the environment. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 257-269, 2022.

LAZIC, J., SKARO BOGOJEVIC, S., VOJNOVIC, S., ALEKSIC, I., MILIVOJEVIC, D., KRETZSCHMAR, M., ... & NIKODINOVIC-RUNIC, J. (2022). Synthesis, anticancer potential and comprehensive toxicity studies of novel brominated derivatives of bacterial biopigment prodigiosin from *Serratia marcescens* ATCC 27117. **Molecules**, 27(12), 3729.

LEILA, B. K., HADJIRA, B., NOUREDDINE, B., & FLORENCE, M. Optimization of medium components to improve the antimicrobial activity of a new Saharan actinobacterial strain *Saccharothrix tamanrassetensis* DSM 45947. **Research Journal of Biotechnology Vol**, v. 16, p. 7, 2021.

LEWIN, G. R., CARLOS, C., CHEVRETTE, M. G., HORN, H. A., MCDONALD, B. R., STANKEY, R. J., ... & CURRIE, C. R. Evolution and ecology of Actinobacteria and their bioenergy applications. **Annual review of microbiology**, v. 70, p. 235-254, 2016.

LI, P., HE, S., ZHANG, X., GAO, Q., LIU, Y., & LIU, L. Structures, biosynthesis, and bioactivities of prodiginine natural products. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 106(23), 7721-7735, 2022.

LIANG, X., MA, C., YAN, X., LIU, X., & LIU, F., Advances in research on bioactivity, metabolism, stability and delivery systems of lycopene. **Trends in Food Science & Technology**, v. 93, p. 185-196, 2019.

LIN, X., DONG, L., MIAO, Q., HUANG, Z., & WANG, F. Cycloheptylprodigiosin from marine bacterium *Spartinivacinus ruber* MCCC 1K03745T induces a novel form of cell death characterized by Golgi disruption and enhanced secretion of cathepsin D in non-small cell lung cancer cell lines. *European Journal of Pharmacology*, 974, 176608, 2024.

LOPES, F. C.; LIGABUE-BRAUN, R.. Agro-industrial residues: Eco-friendly and inexpensive substrates for microbial pigments production. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, p. 589414, 2021.

LOUGHMAN, J., LOSKUTOVA, E., BUTLER, J. S., SIAH, W. F., & O'BRIEN, C., Macular Pigment Response to Lutein, Zeaxanthin, and Meso-zeaxanthin Supplementation in Open-Angle Glaucoma: A Randomized Controlled Trial. **Ophthalmology Science**, v. 1, n. 3, p. 100039, 2021.

LU, Y., LIU, D., JIANG, R., Li, Z., & GAO, X.; Prodigiosin: unveiling the crimson wonder—a comprehensive journey from diverse bioactivity to synthesis and yield enhancement. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 1412776, 2024.

LUDWIG, W., EUZÉBY, J., SCHUMANN, P., BUSSE, H. J., TRUJILLO, M. E., KÄMPFER, P., WHITMAN, W. B. **Road map of the phylum Actinobacteria**. In: Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology. Springer New York, p.1-28, 2012.

MANANDHAR, S.; SHARMA S., **Practical Approach to Microbiology**, pp. 273–276, National Book Centre, Kathmandu, Nepal, 3rd edition, 2017.

MANTECA A.; SANCHEZ J. Streptomyces developmental cycle and secondary metabolite production. **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology** 1: 560-566, 2010.

MARCELINO, M. Y. BORGES, F. A., SCORZONI, L., de LACORTE SINGULANI, J., GARMS, B. C., NIEMEYER, J. C., ... & HERCULANO, R. D. et al. Synthesis and characterization of gold nanoparticles and their toxicity in alternative methods to the use of mammals. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 6, p. 106779, 2021.

MARCHAL, E., SMITHEN, D. A., UDDIN, M. I., ROBERTSON, A. W., JAKEMAN, D. L., MOLLARD, V., ... & THOMPSON, A. (Synthesis and antimalarial activity of prodigiosenes. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 12 n. 24, 4132-4142, 2014.

MAURYA, A., MAURYA, K. K., AGARWAL, A., TRIPATHI, A., NANDAN, A., PANESAR, P. S., ... & TRIPATHI, A. D. Effect of Amino Acid Supplementation on Prodigiosin and its Derivatives Production Using Agro-Waste as Potential Substrate. **Indian Journal of Microbiology**, 1-14, 2024.

MENG-XI, L. I., HUI-BIN, H., JIE-YUN, L., JING-XIAO, C. A. O., & Zhen-Wang, Z. Antibacterial performance of a *Streptomyces spectabilis* strain producing metacycloprodigiosin. **Current Microbiology**, v. 78, n. 7, p. 2569-2576, 2021.

MERCADANTE, A. Z., RODRIGUES, D. B., PETRY, F. C., & MARIUTTI, L. R. B., Carotenoid esters in foods-A review and practical directions on analysis and occurrence. **Food Research International**, v. 99, p. 830-850, 2017.

METWALLY, R. A., EI SIKAILY, A., EI-SERSY, N. A., GHOZLAN, H. A., & SABRY, S. A, Antimicrobial activity of textile fabrics dyed with prodigiosin pigment extracted from marine *Serratia rubidaea* RAM_Alex bacteria. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 47 n.

3.; 301-305, 2021.

MEWBORN, C. M., LINDBERGH, C. A., HAMMOND, B. R., RENZI-HAMMOND, L. M., & MILLER, L. S., The effects of lutein and zeaxanthin supplementation on brain morphology in older adults: A randomized, controlled trial. **Journal of Aging Research**, v. 2019, 2019.

MISHRA, R. C., KALRA, R., DILAWARI, R., DESHMUKH, S. K., BARROW, C. J., & GOEL, M., Characterization of an endophytic strain *Talaromyces assiutensis*, CPEF04 with evaluation of production medium for extracellular red pigments having antimicrobial and anticancer properties. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 665702, 2021.

MITRA, S., RAUF, A., TAREQ, A. M., JAHAN, S., EMRAN, T. B., SHAHRIAR, T. G., ... & RENGASAMY, K. R. POTENTIAL health benefits of carotenoid lutein: An updated review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 154, p. 112328, 2021.

MONTE, J., RIBEIRO, C., PARREIRA, C., COSTA, L., BRIVE, L., CASAL, S., ... & CRESPO, J. G. Biorefinery of *Dunaliella salina*: Sustainable recovery of carotenoids, polar lipids and glycerol. **Bioresource technology**, v. 297, p. 122509, 2020.

MUÑOZ, X.; CLOFENT, D.; CRUZ, M. J., Occupational respiratory allergy to reactive dyes. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, p. 10.1097, 2022.

MUSA, Z., MA, J., EGAMBERDIEVA, D., ABDELSHAFY MOHAMAD, O. A., ABAYDULLA, G., LIU, Y., ... & LI, L., Diversity and antimicrobial potential of cultivable endophytic actinobacteria associated with the medicinal plant *Thymus roseus*. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 191, 2020.

MUSSAGY, C. U.; KHAN, S.; KOT, A. M., Current developments on the application of microbial carotenoids as an alternative to synthetic pigments. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 25, p. 6932-6946, 2021.

NAMMALI, A., DUANGUPAMA, T., PITTAYAKHAJONWUT, P., INTARAUDOM, C., SURIYACHADKUN, C., HE, Y. W., ... & THAWAI, C., *Streptomyces acidipaludis* sp. nov., an actinobacterium isolated from peat swamp forest soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 72, n. 12, p. 005626, 2022.

NAWAZ, A., CHAUDHARY, R., SHAH, Z., DUFOSSÉ, L., FOUILLAUD, M., MUKHTAR, H., & ul HAQ, I., An overview on industrial and medical applications of bio-pigments synthesized by marine bacteria. **Microorganisms**, v. 9, n. 1, p. 11, 2020.

NOUIOUI, I., PÖTTER, G., JANDO, M., & GOODFELLOW, M., *Nocardia noduli* sp. nov., a novel actinobacterium with biotechnological potential. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 5, p. 260, 2022.

PAILLIÈ-JIMÉNEZ, M. E.; STINCONE, P.; BRANDELLI, A., Natural pigments of microbial origin. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, p. 590439, 2020.

PAKDEL, E., XIE, W., WANG, J., KASHI, S., SHARP, J., ZHANG, Q., ... & WANG, X.,

Superhydrophobic natural melanin-coated cotton with excellent UV protection and personal thermal management functionality. **Chemical Engineering Journal**, v. 433, p. 133688, 2022.

PAPADAKI, E., & MANTZOURIDOU, F. T. Natural β -carotene production by *Blakeslea trispora* cultivated in spanish-style green olive processing wastewaters. **Foods**, **10**(2), 327, 2021.

PAUL, T., BANDYOPADHYAY, T. K., MONDAL, A., TIWARI, O. N., MUTHURAJ, M., & BHUNIA, B. A comprehensive review on recent trends in production, purification, and applications of prodigiosin. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-23. 2020.

PÉREZ-TOMÁS, Ricardo; VINAS, M. New insights on the antitumoral properties of prodiginines. **Current Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 21, p. 2222-2231, 2010.

PIATEK, M.; SHEEHAN, G.; KAVANAGH, K., *Galleria mellonella*: the versatile host for drug discovery, in vivo toxicity testing and characterising host-pathogen interactions. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, p. 1545, 2021.

PONGEN, Y. L., THIRUMURUGAN, D., RAMASUBBURAYAN, R., & PRAKASH, S. Harnessing actinobacteria potential for cancer prevention and treatment. **Microbial Pathogenesis**, n. 183, 106324, 2023.

QIN, Z.; WANG, X.; GAO, S.; LI, D.; ZHOU, J. Production of natural pigments using microorganisms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 71, n. 24, p. 9243-9254, 2023.

RAMESH, C., PRASASTHA, V. R., VENKATACHALAM, M., & DUFOSSÉ, L., Natural Substrates and Culture Conditions to Produce Pigments from Potential Microbes in Submerged Fermentation. **Fermentation**, v. 8, n. 9, p. 460, 2022.

RAMESH, C., VINITHKUMAR, N. V., KIRUBAGARAN, R., VENIL, C. K., & DUFOSSÉ, L., Multifaceted applications of microbial pigments: current knowledge, challenges and future directions for public health implications. **Microorganisms**, v. 7, n. 7, p. 186, 2019.

RANA, B., BHATTACHARYYA, M., PATNI, B., ARYA, M., & JOSHI, G. K., The realm of microbial pigments in the food color market. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, p. 603892, 2021.

RAPOPORT, H., & WILLSON, C. D. The preparation and properties of some methoxypyrroles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 84 n. 4, 630-635, 1962.

RATHER, L. J., MIR, S. S., GANIE, S. A., & LI, Q. Research progress, challenges, and perspectives in microbial pigment production for industrial applications-A review. **Dyes and Pigments**, **210**, 110989, 2023.

REIHANI, S. F. S.; KHOSRAVI-DARANI, K. Influencing factors on single-cell protein production by submerged fermentation: A review. **Electronic journal of**

biotechnology, v. 37, p. 34-40, 2019.

RESENDE, D. I., FERREIRA, M., MAGALHÃES, C., LOBO, J. S., SOUSA, E., & ALMEIDA, I. F., Trends in the use of marine ingredients in anti-aging cosmetics. **Algal Research**, v. 55, p. 102273, 2021.

SAINI, R. K.; KEUM, Y.-S.. Microbial platforms to produce commercially vital carotenoids at industrial scale: an updated review of critical issues. **Journal of industrial microbiology and biotechnology**, v. 46, n. 5, p. 657-674, 2019.

SALWAN, R.; SHARMA, V.. Molecular and biotechnological aspects of secondary metabolites in actinobacteria. **Microbiological research**, v. 231, p. 126374, 2020.

SANDMANN, G. Carotenoid biosynthesis in the phylum Actinobacteria. **Carotenoids: Biosynthetic and Biofunctional Approaches**, p. 175-181, 2021.

SAPKOTA, A., THAPA, A., BUDHATHOKI, A., SAINJU, M., SHRESTHA, P., & ARYAL, S. Isolation, characterization, and screening of antimicrobial-producing actinomycetes from soil samples. **International Journal of Microbiology**, v. 2020, 2020.

SARMIENTO-TOVAR, A. A., SILVA, L., SÁNCHEZ-SUÁREZ, J., & DIAZ, L., Streptomyces-Derived Bioactive Pigments: Ecofriendly Source of Bioactive Compounds. **Coatings**, v. 12, n. 12, p. 1858, 2022.

SELIM, M. S. M.; ABDELHAMID, S. A.; MOHAMED, S. S.. Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. **Journal of Genetic Engineering and biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 72, 2021.

SEN, T.; BARROW, C. J.; DESHMUKH, S. K., Microbial pigments in the food industry—challenges and the way forward. **Frontiers in Nutrition**, v. 6, p. 7, 2019.

SERRANO, I., VERDIAL, C., TAVARES, L., & OLIVEIRA, M., The Virtuous *Galleria mellonella* Model for Scientific Experimentation. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, p. 505, 2023.

SETIYONO, E., ADHIWIBAWA, M. A. S., INDRAWATI, R., PRIHASTYANTI, M. N. U., SHIOI, Y., & BRODOSUDARMO, T. H. P.; An Indonesian marine bacterium, *Pseudoalteromonas rubra*, produces antimicrobial prodiginine pigments. *ACS omega*, 5(9), 4626-4635 2020.

SHARMA, M.; DANGI, P.; CHOUDHARY, M. Actinomycetes: source, identification, and their applications. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 3, n. 2, p. 801-832, 2014.

SHEEFAA, M. I., & SIVAPERUMAL, P., Antioxidant activities from melanin pigment produced by marine actinobacterium of Streptomyces species. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 13, n. 5, p. 84, 2022.

SHET, A. R., MUHSINAH, A. B., ALSAYARI, A., ACHAPPA, S., DESAI, S. V., MAHNASHI, M. H., ... & KHAN, A. A., Media optimization by response surface methodology for the enhanced production of acidic extracellular pectinase by the

indigenously isolated novel strain *Aspergillus cervinus* ARS2 using solid-state fermentation. **Fermentation**, v. 8, n. 10, p. 485, 2022.

SHETTY, A. V. K., DAVE, N., MURUGESAN, G., PAI, S., PUGAZHENDHI, A., VARADAVENKATESAN, T., ... & SELVARAJ, R., Production and extraction of red pigment by solid-state fermentation of broken rice using *Monascus sanguineus* NFCCI 2453. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 33, p. 101964, 2021.

SHIRLING, E. B; GOTTLIEB, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 313- 340, 1966.

SHUIKAN, A. M., HOZZEIN, W. N., ALZHARANI, M. M., SANDOUKA, M. N., AL YOUSEF, S. A., ALHARBI, S. A., & DAMRA, E., Enhancement and identification of microbial secondary metabolites. **Extrem. Microbes Metab. Divers. Bioprospecting Biotechnol. Appl**, v. 10, 2020.

SILVA, A. M., DE ARAÚJO SOBRAL, M., CRUZ FILHO, I. J., de QUEIROZ XAVIER, A. T., de LIMA SILVA, M. S., SANTOS, B. S., ... & de SOUZA LIMA-GOMES, G. M., Red pigment production by *Amycolatopsis* sp. UFPEDA 3134. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e24711729841-e24711729841, 2022.

SINGH, A., GAUTAM, P. K., VERMA, A., SINGH, V., SHIVAPRIYA, P. M., SHIVALKAR, S., ... & SAMANTA, S. K., Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review. **Biotechnology Reports**, v. 25, p. e00427, 2020.

SINGH, R. K. Lymphocutaneous Nocardiosis in a Patient With Human Immunodeficiency/Tuberculosis Coinfection. **Cureus**, v. 14, n. 2, 2022.

SINGH, R. V.; SAMBYAL, K.. An overview of β -carotene production: Current status and future prospects. **Food Bioscience**, p. 101717, 2022.

SINGH, S., NIMSE, S. B., MATHEW, D. E., DHIMMAR, A., SAHASTRABUDHE, H., GAJJAR, A., ... & SHINDE, P. B., Microbial melanin: Recent advances in biosynthesis, extraction, characterization, and applications. **Biotechnology Advances**, v. 53, p. 107773, 2021.

SINGH, Tripti et al. Natural bio-colorant and pigments: Sources and applications in food processing. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 12, p. 100628, 2023.

SINGULANI, J. L., PEDROSO, R. S., RIBEIRO, A. B., NICOLELLA, H. D., FREITAS, K. S., DAMASCENO, J. L., ... & PIRES, R. H., Geraniol and linalool anticandidal activity, genotoxic potential and embryotoxic effect on zebrafish. **Future Microbiology**, v. 13, n. 15, p. 1637-1646, 2018.

SMITH, D. F., DRAGOTAKES, Q., KULKARNI, M., HARDWICK, J. M., & CASADEVALL, A. *Galleria mellonella* immune melanization is fungicidal during infection. **Communications biology**, v. 5, n. 1, p. 1364, 2022.

SODHI, A. S., SHARMA, N., BHATIA, S., VERMA, A., SONI, S., & BATRA, N., Insights on sustainable approaches for production and applications of value added

products. **Chemosphere**, v. 286, p. 131623, 2022.

SOLANO, F., Photoprotection and skin pigmentation: Melanin-related molecules and some other new agents obtained from natural sources. **Molecules**, v. 25, n. 7, p. 1537, 2020.

SOLIMAN, H. S., ALKARAMANI, M. A., ELBADWY, I. G., AWAD, Z. A., EIDA, M. A., & HASSABO, A. G. The importance of color in marketing and customer behavior. **Journal of Textiles, Coloration and Polymer Science**, v. 21, n. 2, 2024.

SONG, Z., XU, T., WANG, J., HOU, Y., LIU, C., LIU, S., & WU, S., Secondary metabolites of the genus *Amycolatopsis*: Structures, bioactivities and biosynthesis. **Molecules**, v. 26, n. 7, p. 1884, 2021.

SOUZA-SILVA, G., de SOUZA, C. R., PEREIRA, C. A. D. J., dos SANTOS LIMA, W., Mol, M. P. G., & SILVEIRA, M. R. Using freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) as a biological model for ecotoxicology studies: a systematic review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30 n. 11, 28506-28524, 2023.

SRINIVASAN, M. C.; LAXMAN, R. S.; DESHPANDE, M. V. Physiology and nutritional aspects of actinomycetes: an overview. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 7, p. 171-184, 1991.

SUNDAR, R.; SIVAPERUMAL, P., Melanin pigments from sediment-associated *Nocardiopsis* sp. marine actinobacterium and antibacterial potential. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 13, n. 5, p. 88, 2022.

SURYAWANSHI, R. K., KOUJAH, L., PATIL, C. D., AMES, J. M., AGELIDIS, A., YADAVALLI, T., ... & SHUKLA, D., Bacterial pigment prodigiosin demonstrates a unique antiherpesvirus activity that is mediated through inhibition of prosurvival signal transducers. **Journal of Virology**, v. 94, n. 13, p. e00251-20, 2020.

SUZUKI, N., OHTAGURO, N., YOSHIDA, Y., HIRAI, M., MATSUO, H., YAMADA, Y., ... & TSUCHIYA, T. (2015). A compound inhibits biofilm formation of *Staphylococcus aureus* from *Streptomyces*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 38 n. 6, 889-892.

THIYAGARASAIYAR, K., GOH, B. H., JEON, Y. J., & YOW, Y. Y., Algae metabolites in cosmeceutical: An overview of current applications and challenges. **Marine drugs**, v. 18, n. 6, p. 323, 2020.

TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia-12ª Edição**. Artmed Editora, 2017.

TYAGI, B.; KUMAR, N. Bioremediation: principles and applications in environmental management. In: **Bioremediation for environmental sustainability**. Elsevier, 2021. p. 3-28.

van BERGEIJK, D. A., TERLOUW, B. R., MEDEMA, M. H., & van WEZEL, G. P.

(2020)., Ecology and genomics of Actinobacteria: new concepts for natural product discovery. *Nature Reviews Microbiology*, v. 18, n. 10, p. 546-558, 2020.

VENIL, C. K.; DEVI, P. R.; AHMAD, W. A., Agro-industrial waste as substrates for the production of bacterial pigment. **Valorisation of Agro-industrial Residues–Volume I: Biological Approaches**, p. 149-162, 2020.

VENIL, C. K.; DUFOSSÉ, L.; RENUKA DEVI, P., Bacterial pigments: sustainable compounds with market potential for pharma and food industry. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, p. 100, 2020.

XIAO, Z., MORRIS-NATSCHKE, S. L., & LEE, K. H. Strategies for the optimization of natural leads to anticancer drugs or drug candidates. *Med. Res. Rev.*, 36(1), 32-91, 2016. <https://doi.org/10.1002/med.21377>

WEBER, T. M., LEYENS, A., BERNING, L., STORK, B., & PIETRUSZKA, J.; New prodigiosin derivatives–chemoenzymatic synthesis and physiological evaluation against cisplatin-resistant cancer cells. **Catalysis Science & Technology**, v. 13 n. 21, 6165-6184, 2023.

WHITMAN, W. B. et al. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 5: The Actinobacteria** (Springer Science & Business Media, 2012).

WITHALL, D. M., HAYNES, S. W., & CHALLIS, G. L. Stereochemistry and mechanism of undecylprodigiosin oxidative carbocyclization to streptorubin B by the Rieske oxygenase RedG. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137 n. 24, 7889-7897, 2015.

WITTKOWSKI, P., MARX-STOELTING, P., VIOLET, N., FETZ, V., SCHWARZ, F., OELGESCHLÄGER, M., ... & VOGL, S. *Caenorhabditis elegans* as a promising alternative model for environmental chemical mixture effect assessment—a comparative study. **Environmental Science & Technology**, v. 53, n. 21, p. 12725-12733, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Antimicrobial resistance: global report on surveillance. **World Health Organization**, 2014.

WREDE, F., & HETTCHE, O. Über das Prodigiosin, den roten Farbstoff des *Bacillus Prodigiosus* (I. Mitteil.). **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)**, v. 62 n. 9, 2678-2685, 1929.

YADAV, S., TIWARI, K. S., GUPTA, C., TIWARI, M. K., KHAN, A., & SONKAR, S. P., A brief review on natural dyes, pigments: Recent advances and future perspectives. **Results in Chemistry**, p. 100733, 2023.

YAO, Y.; ZHANG, T.; TANG, M., A critical review of advances in reproductive toxicity of common nanomaterials to *Caenorhabditis elegans* and influencing factors. **Environmental Pollution**, p. 119270, 2022.

YI, J. S., KIM, J. M., KANG, M. K., KIM, J. H., CHO, H. S., BAN, Y. H., ... & YOON, Y. J. (Whole-genome sequencing and analysis of *Streptomyces* strains producing

multiple antinematode drugs. **BMC genomics**, v. 23 n. 1, 610, 2022.

YIP, C. H., MAHALINGAM, S., WAN, K. L., & NATHAN, S. Prodigiosin inhibits bacterial growth and virulence factors as a potential physiological response to interspecies competition. **PLoS One**, v. 16 n. 6, e0253445, 2021.

ZAREENKOUSAR, K., HUNGUND BASAVARAJ, S., DIKSHA, D., BANAPURMATH NAGARAJ, R., & YARADODDI JAYACHANDRA, S. Potential Biomedical implications of bioactive pigment and silver nanoparticles produced by the actinobacteria *Rhodococcus* sp. NCIM 5126. **Research Journal of Biotechnology Vol**, v. 17, p. 5, 2022.

ZAROUBI, L., OZUGERGIN, I., MASTRONARDI, K., IMFELD, A., LAW, C., GÉLINAS, Y., ... & FINDLAY, B. L., The ubiquitous soil terpene geosmin acts as a warning chemical. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 88, n. 7, p. e00093-22, 2022.
ZERRES, S.; STAHL, W., Carotenoids in human skin. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1865, n. 11, p. 158588, 2020.

ZHAO, C., QIU, S., HE, J., PENG, Y., XU, H., FENG, Z., ... & NIE, Y. Prodigiosin impairs autophagosome-lysosome fusion that sensitizes colorectal cancer cells to 5-fluorouracil-induced cell death. **Cancer Letters**, v. 481, 15-23, 2020.

ZHOU, K., Yu, J., MA, Y., CAI, L., ZHENG, L., GONG, W., & LIU, Q. A., Corn steep liquor: green biological resources for bioindustry. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 194, n. 7, p. 3280-3295, 2022.

ANEXO A – Comprovante de submissão do artigo 1



AMANDA MARIA DA SILVA <amanda.msilva4@ufpe.br>

Fwd: MICRES-D-25-00872 - Confirming your submission to Microbiological Research

GLAUCIA MANOELLA DE SOUZA LIMA <glauclia.msilma@ufpe.br>

24 de fevereiro de 2025 às 16:01

Para: Amanda Maria da Silva <amanda.msilva4@ufpe.br>

----- Forwarded message -----

De: **Microbiological Research** <em@editorialmanager.com>

Date: seg., 24 de fev. de 2025 às 16:00

Subject: MICRES-D-25-00872 - Confirming your submission to Microbiological Research

To: Gláucia Manoella de Souza Lima-Gomes <glauclia.msilma@ufpe.br>

This is an automated message.

Beyond Color: Biosynthesis, Functions, and Biotechnological Applications of Prodigonins – A Review

Dear Dr Lima-Gomes,

We have received the above referenced manuscript you submitted to Microbiological Research. It has been assigned the following manuscript number: **MICRES-D-25-00872**.

To track the status of your manuscript, please log in as an author at <https://www.editorialmanager.com/micres/>, and navigate to the "Submissions Being Processed" folder.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,
Microbiological Research

FAQ: How can I reset a forgotten password?

https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28452/supporthub/publishing/

For further assistance, please visit our customer service site: <https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>

Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about Editorial Manager via interactive tutorials. You can also talk 24/7 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, then you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated Scientific Managing Editor, a tool assisted recommendation, or a combination. For more details see the journal guide for authors.

At Elsevier, we want to help all our authors to stay safe when publishing. Please be aware of fraudulent messages requesting money in return for the publication of your paper. If you are publishing open access with Elsevier, bear in mind that we will never request payment before the paper has been accepted. We have prepared some guidelines (<https://www.elsevier.com/connect/authors-update/seven-top-tips-on-stopping-apc-scams>) that you may find helpful, including a short video on Identifying fake acceptance letters (<https://www.youtube.com/watch?v=o5l8thD9XtE>). Please remember that you can contact Elsevier's Researcher Support team (<https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>) at any time if you have questions about your manuscript, and you can log into Editorial Manager to check the status of your manuscript (https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/29155/c/10530/supporthub/publishing/kw/status/).

#AU_MICRES#

To ensure this email reaches the intended recipient, please do not delete the above code

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Remove my information/details). Please contact the publication office if you have any questions.