UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Avaliação química e biológica dos organismos marinhos cianobactéria *Cyanobium* sp. CENA139 e fungo endofítico T68

Gabriel Brolio Pavão

Ribeirão Preto
2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Avaliação química e biológica dos organismos marinhos cianobactéria *Cyanobium* sp. CENA139 e fungo endofítico T68

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientado: Gabriel Brolio Pavão

Orientadora: Profa. Dra. Hosana Maria Debonsi

Ribeirão Preto
2016

Resumo

PAVÃO, G. B. **Avaliação química e biológica dos organismos marinhos cianobactéria *Cyanobium* sp. CENA139 e fungo endofítico T68.** 2016. **N FOLHAS**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

Este trabalho teve como objetivo principal a avaliação dos perfis químico e biológico de duas linhagens de microrganismos marinhos, a cianobactéria do gênero *Cyanobium* sp. CENA139, proveniente dos manguezais da Ilha do Cardoso, do Estado de São Paulo e o fungo T68, pertencente à família Xylariaceae, isolado da alga vermelha *Bostrychia tenella*, proveniente dos costões rochosos da Praia Dura, no Estado de São Paulo. Para atingir este objetivo, foram realizados culturas isoladas dos microrganismos e a co-cultura entre o fungo T68 e a cianobactéria CENA139; técnicas de extração por partição volume/volume; métodos cromatográficos como cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), bem como técnicas espectroscópicas e espectrométricas de RMN 1-D e 2-D, CL-EM, CG-EM, além de desreplicação (utilizando o banco de dados MarinLit® e o Dicionário de Produtos Naturais. Foram isoladas três substâncias do fungo estudado: Esterigmatocistina, T68ARf60_a e T68ARf60_b. A micotoxina esterigmatocistina foi isolada também a partir da co-cultura entre o fungo e a cianobactéria. Este trabalho mostrou que houve interações ecológicas competitivas na cultura mista entre *Cyanobium* sp. CENA139 e o fungo T68, resultando na prevalência da cultura fúngica. Para finalizar, este trabalho avaliou a atividade biológica dos extratos brutos das culturas isoladas e co-cultura, não apresentando atividade antimicrobiana. Entretanto, o extrato bruto T68 mostrou-se fototóxico nos ensaios de fototoxicidade e a substância isolada esterigmatocistina foi citotóxica e fotoxóxica no mesmo ensaio, além de exercer citotoxicidade frente à linhagem tumoral HepG2 no ensaio de citotoxicidade MTT.

Palavras-chave: Cianobactérias. Fungo endofítico. Produtos naturais marinhos. Co-cultura. Micotoxina.

Abstract

PAVÃO, G. B. **Chemical and biological evaluation of marine organisms cyanobacteria *Cyanobium* sp. CENA139 and endophytic fungus T68.** 2016. **PAGES.** Dissertation (Master). School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto – University of São Paulo, 2016.

This study had as main objective the evaluation of the chemical and biological profiles of two strains of microorganisms, the cyanobacteria *Cyanobium* sp. CENA139, from Ilha do Cardoso mangroves, São Paulo State, and the endophytic fungus T68, Xylariaceae family, isolated from the red algae *Bostrychia tenella*, from the rocky shores at Praia Dura, São Paulo State. To accomplish this objective, we performed isolated cultures of the microorganisms and the co-culture between the fungus T68 and the cyanobacteria CENA139; partition extraction techniques; chromatographic methods such as thin layer chromatography and high performance liquid chromatography. Also, we performed spectroscopic and spectrometric techniques of NMR 1-D and 2-D, LC-MS, GC-MS, besides dereplication using data sources as MarinLit® and the Dictionary of Natural Products. Three compounds were isolated from the endophytic fungus culture: Sterigmatocystin, T68ARf60_a and T68ARf60_b. The mycotoxin sterigmatocystin was also isolated from the co-culture. This study showed that there was competitive ecological interactions between *Cyanobium* sp. CENA139 and the fungus T68 in the co-culture, resulting in the prevalence of the fungal culture. Finally, this study evaluated the biological potential of the crude extract from both isolated cultures and the co-culture, not exerting antimicrobial activity. Nevertheless, the T68 crude extract was shown to be phototoxic on the phototoxicity assays and the isolated sterigmatocystin was both cytotoxic and phototoxic in the same assay, besides exerting cytotoxicity on the tumor cell line HepG2 in the MTT assay.

Keywords: Cyanobacteria. Endophytic funghi. Marine natural products. Co-culture. Mycotoxin.

– I –

INTRODUÇÃO

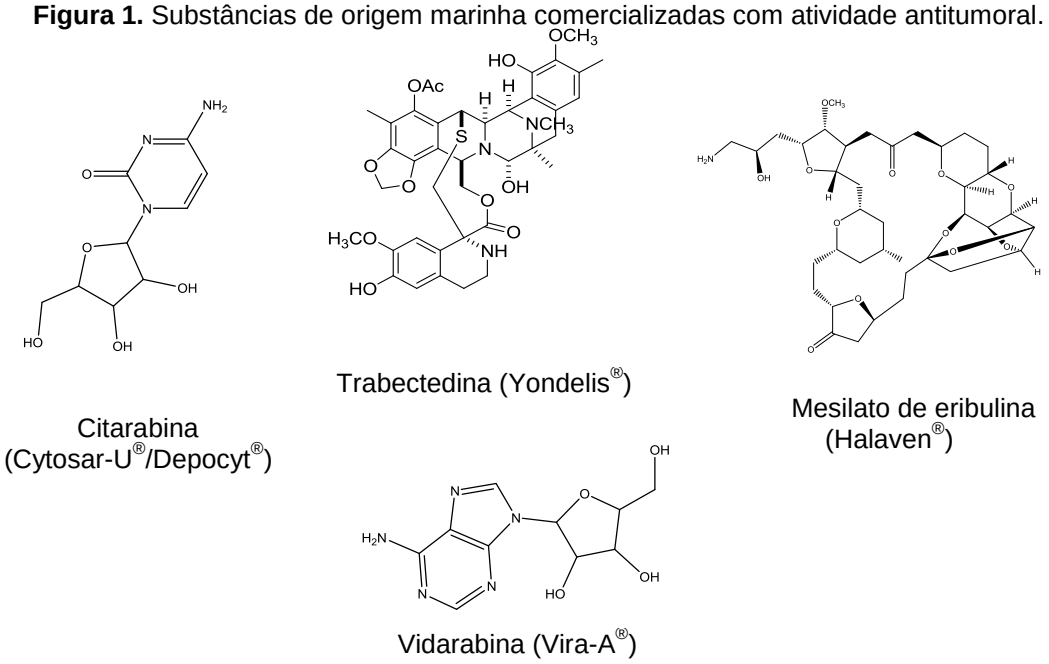
Os oceanos comportam a maior biodiversidade do planeta. O ecossistema que ali existe faz com que os organismos mantenham uma relação de competitividade e, pressionados pelo meio, produzem uma variedade de metabólitos secundários (BERLINCK et al., 2004; GERWICK; FENNER, 2013; PEREIRA; SOARES-GOMES, 2009; SCHUMACHER et al., 2011). Em se tratando do ambiente marinho, na década de 50, foram isoladas as primeiras substâncias de origem marinha, provenientes de esponjas, as quais demonstraram propriedades antivirais e antitumorais que levaram a produção dos fármacos vidarabina (Vira-A®), citarabina (Cytosar-U® e Depocyt®) e mesilato de eribulina (Halaven®) que podem ser vistos na Figura 1 (GERWICK; FENNER, 2013; GERWICK; MOORE, 2012; UZAIR et al., 2012). Dados recentes indicam que mais de 22 mil novas substâncias já foram isoladas, correspondendo a menos de 2% da biodiversidade marinha total (BLUNT et al., 2010; GERWICK; FENNER, 2013; GERWICK; MOORE, 2012).

Além das substâncias citadas anterioremente outras já estão sendo comercializadas, como trabectedina (Yondelis®), um medicamento antitumoral sintetizado por tunicados, cujas estruturas são apresentadas na Figura 1 (BLUNT et al., 2010; DAVID; WOLFENDER; DIAS, 2015; GERWICK; MOORE, 2012; MAYER et al., 2010).

No que diz respeito à microbiota marinha, compostos microbianos marinhos estão sendo recentemente estudados e têm-se observado que moluscos, esponjas e tunicados são fontes ricas de substâncias marinhas, o que não exclui a possibilidade de abrigarem micro-organismos, como bactérias e cianobactérias que podem ser os reais produtores dessas substâncias. O metabolismo destes é considerado uma jóia rara do mundo dos oceanos, sendo responsáveis por 80% do total dos metabólitos submetidos a ensaios clínicos e agentes farmacêuticos aprovados (CHOI; PEREIRA; GERWICK,

2012; GERWICK; FENNER, 2013; GERWICK; MOORE, 2012; MEVERS et al., 2014; MILLER et al., 2014; SCHUMACHER et al., 2011).

Figura 1. Substâncias de origem marinha comercializadas com atividade antitumoral.



De acordo com os estudos realizados nos últimos 30 anos, onde medicamentos antivirais, anticancerígenos, analgésicos e para hiperlipidemia foram aprovados como drogas comerciais, mostra-se interessante a pesquisa de metabólitos secundários utilizando micro-organismos marinhos, inclusive cianobactérias. Com os resultados obtidos ao longo dos anos, mostra-se a importância da busca por novas substâncias com grande potencial farmacológico (GERWICK; MOORE, 2012; UZAIR et al., 2012).

1.1 Cianobactérias

As cianobactérias também conhecidas como cianofíceas ou cianoprocariotas são micro-organismos procariontes, pois não apresentam núcleo e estruturas definidas sendo ainda aeróbios fotossintetizantes, pertencendo à classe das bactérias gram-negativas (MELO; NEVES; BAPTISTA, 2011; PEREIRA; SOARES-GOMES, 2009; SANT'ANNA et al., 2006) As cianobactérias constituem o grupo mais vasto e diversificado dos micro-organismos procarióticos fotossintetizadores, com aproximadamente 2400 espécies, estando presentes no ambiente terrestre há cerca de 3 bilhões de anos (GERWICK; FENNER, 2013). Habitam os mais variados ecossistemas,

como o terrestre, marinho, fluvial, glacial, deserto e águas termais, podendo existir em simbiose com outros organismos, como (MELO; NEVES; BAPTISTA, 2011; SANT'ANNA et al., 2006)

Cianobactérias apresentam algumas vantagens adaptativas a meios inóspitos quando comparadas a outros organismos, como por exemplo, a capacidade de fixar nitrogênio, absorção de luz, tipos de células diferenciadas para reprodução ou descanso e um meio para regular a flutuação (SANT'ANNA et al., 2006).

A maioria dos estudos realizados com cianobactérias teve início no Havaí, Caribe, Madagascar e Papua Nova Guiné, abrindo novas possibilidades para locais ainda inexplorados. A pesquisa de produtos naturais em cianobactérias marinhas possui uma alta taxa de descoberta >95% de novos compostos quando comparado a outros recursos microbianos tradicionais (PEREIRA; SOARES-GOMES, 2009; TAN, 2007).

A maior parte dos metabólitos de cianobactérias são produzidos a partir da via biossintética dos polipeptídeos (ribossomais ou não ribossomais) ou de policetídeos onde atuam policetídeo sintase (PKS) e peptídeo não ribossomal sintetase (NPKS). No que diz respeito ao expressivo potencial farmacológico, esse grupo posssui atividade citotóxica, inibe a atividade de certas enzimas, como proteases, além de possui atividade anticancerígena, antiviral, antimicrobiana, antiinflamatória e antimalárica (GERWICK; FENNER, 2013; NUNNERY; MEVERS; GERWICK, 2010; SINGH et al., 2011)

As florações que ocorrem ao longo da costa são um aumento da densidade de organismos como dinoflagelados, algas e cianobactérias, e que muitas vezes podem modificar a coloração da água, devido à presença de substâncias como clorofila *a*, carotenóides e ficobiliproteínas, de ocorrência nas cianobactérias. Essas florações podem acarretar odor e gosto da água alterados e também produção de toxinas, conhecidas como cianotoxinas, as quais podem aumentar com a presença de nutrientes específicos oriundos do meio ambiente, como a poluição das indústrias, efluentes domésticos e aquecimento global (CARMICHAEL, 1992; SANT'ANNA et al., 2006).

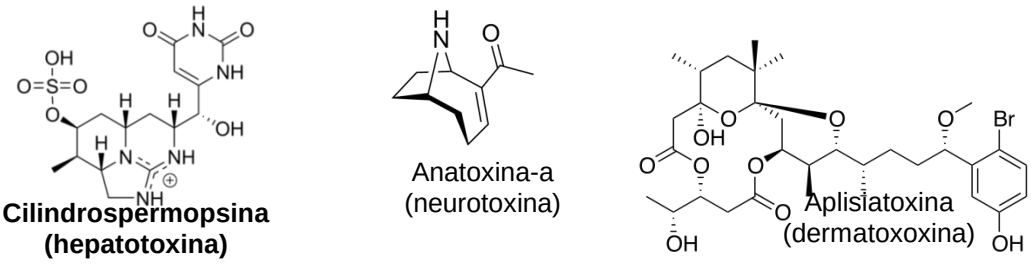
Devido a esse fato, buscam-se novas medidas a fim de evitar danos à saúde pública, como o controle da eutrofização da água, tratamento apropriado para o consumo humano e informações ao público que utilizam reservatórios

de água para atividades recreacionais, ampliando o interesse pelo conhecimento dos metabólitos presentes no meio e que ocasionam esses danos à população (BELLEM; NUNES; MORAIS, 2013; LOZA; PERONA; MATEO, 2013).

As cianotoxinas constituem um grupo bastante diversificado, apresentando assim, diversas propriedades tóxicas. Três classes químicas de metabólitos secundários se destacam na produção de cianotoxinas: peptídeos cíclicos (microcistina e nodularina), alcalóides (anatoxinas, saxitoxinas, cilindrospermopsinas, aplisiatoxinas, lingbiatoxina A) e lipopolissacarídeos (SANT'ANNA et al., 2006; VAN APELDOORN et al., 2007).

Diferentes classes de toxinas já foram identificadas: as hepatotoxinas, como exemplos são destacados a microcistina, nodularina e cilindrospermopsina (Figura 2), produzidas por algumas espécies de *Anabaena, Nodularia, Cylindrospermopsis raciborskii*; as neurotoxinas, que produzem substâncias como, anatoxina-a (*S*) (Figura 2) as saxitoxinas e neo-saxitoxinas e, por fim as citotoxinas, dermatotoxinas, estas produzidas por espécies pertencentes aos gêneros *Lyngbia*, *Oscillatoria* e *Anabaena,* como exemplo a substância aplisiatoxina (Figura 2) (CARMICHAEL, 1992; KAEBERNICK; NEILAN, 2001; SANT'ANNA et al., 2006; ZEGURA; STRASER; FILIPIC, 2011).

Figura 2. Toxinas encontradas em cianobactérias

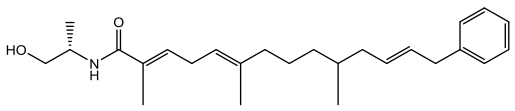


Diversos estudos com cianobactérias marinhas vêm demonstrando além das cianotoxinas, novos metabólitos secundários que podem ser encontrados em diferentes regiões. LEAO et al. (2013) identificaram na espécie *Cyanobium* sp. LEGE 06113 (pertencente à ordem Synechococcales), do litoral de

Portugal, uma substância denominada hierredina B (Figura 3), com atividade antitumoral contra adenocarcinomas de cólon.

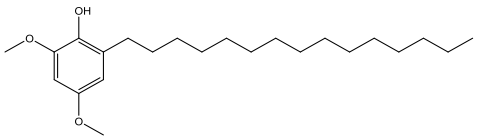
Pertencente à ordem Oscillatoriales, o gênero *Moorea*, tem se mostrado bastante promissor na busca por novas substâncias. Dois novos produtos naturais marinhos de cianobactérias foram isolados de uma coleção da espécie *Moorea producens,* oriundas de Porto Rico, e foram denominados de parguerene (Figura 3) e precarriebowmida (MEVERS; BYRUM; GERWICK, 2013). Além destas substâncias outras já foram isoladas de uma espécie do mesmo gênero da anterior, a *Moorea bouillonii,* um depsipeptídeo cíclico citotóxico inédito, denominado de bouillonamida A, além de outras substâncias já isoladas na mesma espécie, a ulongamida A e apratoxina A. A bouillonamida A (Figura 3) foi testada em linhagens de células de neuroblastomas de rato (Neuron 2a), demonstrando moderada atividade citotóxica, enquanto apratoxina A, apresentou atividade significativa, sendo de importância para este tipo de tumor (TAN; OKINO; GERWICK, 2013).

Figura 3. Substâncias isoladas de cianobactérias marinhas das espécies *Moorea producens* (1)*, Cyanobium sp*. (2)



Parguerene

1



Hierredina B

2

Ainda, com relação à ordem Oscillatoriales, outras espécies se mostraram promissoras na produção de novas substâncias, como a espécie *Symploca* sp., coletada em Papua Nova Guiné, levando a descoberta de três novos lipopeptídeos, denominados de tiasamidas C-E, que correspondem a substâncias similares a outras isoladas anteriormente e de espécies semelhantes de cianobactérias filamentosas (MEVERS et al., 2014). Ainda, outros estudos mostraram que o depsipeptídeo cíclico simplostatina 5 é um potente inibidor da atividade proteolítica de elastases; além das carmaficinas A e B (Figura 4), que apresentaram atividade inibitória de proteassoma peptídico,

apresentando citotoxicidade para células cancerígenas de cólon e de pulmão (PEREIRA et al., 2012; SALVADOR et al., 2013).

As carmaficinas foram isoladas no Instituto Scripps de Oceanografia (San Diego - Califórnia, EUA), sob supervisão do Prof. Dr. William H. Gerwick. A partir desta oportunidade, foram isolados metabólitos secundários de diferentes espécies de cianobactérias marinhas, dentre estas algumas por meio de técnicas de eliciação química, os quais culminaram na publicação de um artigo na ChemBioChem (PEREIRA et al., 2012) e duas patentes: "Compositions and methods for inhibiting proteases", Instituição de registro:WIPO - World Intellectual Property Organization e "Methods of promoting neuron growth". A continuidade deste trabalho realizado em colaboração entre os laboratórios de nosso grupo e do Prof. Gerwick, levou a publicação do artigo no *Journal of Natural Products* (YANG et al., 2013), envolvendo carmaficinas, o qual foi classificado no site da revista como um dos vinte artigos mais visualizados em menos de um ano.

Além das substâncias supracitadas, uma estrutura foi isolada de uma espécie de cianobactéria marinha *Rivularia sp.* (pertencente à ordem Nostocales), denominada de viequeamida A (Figura 4), a qual demonstrou atividade citotóxica na linhagem celular cancerígena H460 de pulmão humano (BOUDREAU et al., 2012; MILLER et al., 2014; PEREIRA et al., 2012; SALVADOR et al., 2013).

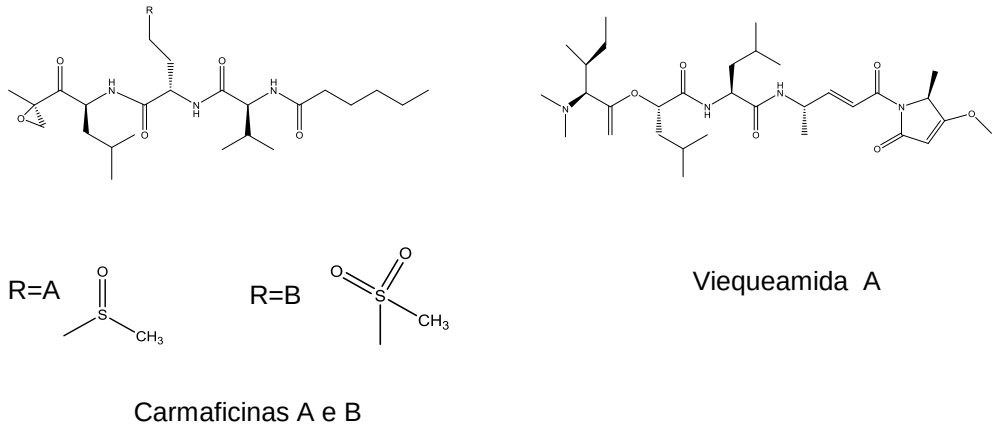


Figura 4. Substâncias isoladas de cianobactérias marinhas com potencial anticancerígeno

A produção de metabólitos secundários estruturalmente variados e pertencentes a gêneros diferentes, aliada aos processos de adaptação das

cianobactérias, contribuem para a exploração sustentável desta diversidade de organismos, facilitada muitas vezes pela vantagem em relação ao seu cultivo, o qual é econômico e requer apenas alguns nutrientes inorgânicos (LININGTON et al., 2009; NUNNERY; MEVERS; GERWICK, 2010).

1.2 Micro-organismos endofíticos

O termo endofítico foi adotado inicialmente por De Bary, em meados do século XIX, fazendo alusão a qualquer micro-organismo que habitasse tecidos saudáveis de plantas (NISA et al., 2015). Considera-se como endófito o micro-organismo que passa ao menos parte de seu ciclo de vida dentro de tecidos saudáveis de uma planta ou organismo autotrófico, numa relação que pode variar de fitopatogênese latente a simbiose mutualística (STROBEL et al., 2004).

A relação micro-organismo endófito-hospedeiro pode resultar em benefícios a ambos, fornecendo resistência às adversidades do meio, com produção de metabólitos bioativos pelo endófito, permitindo maior crescimento do hospedeiro e competitividade na natureza (FLOREZ et al., 2015; NISA et al., 2015). Em contrapartida, o endófito tem como benefício os nutrientes fornecidos pelo hospedeiro, proteção e menos competição com a microbiota externa ao hospedeiro facilitando seu desenvolvimento (FLOREZ et al., 2015).

Estudos mostram que metabólitos secundários bioativos isolados de fungos algícolas incluem compostos com atividade antifúngica, antioxidante, antiparasitária e antitumoral (KRALJ et al., 2006; ZHANG; LI; WANG, 2007), resultante de sua grande capacidade metabólica, com diversificada classe de substâncias, como terpenóides, alcaloides, flavonoides, fenilpropanóides, glicosídeos, entre outros (BLUNT et al., 2015). Dessa forma, esses micro-organismos marinhos demonstram capacidade biossintética promissora quanto à produção de metabólitos biologicamente funcionais (BERLINCK et al., 2004; PENESYAN; KJELLEBERG; EGAN, 2010).

1.3 Co-cultivo entre cianobactéria e fungo

Cianobactérias e fungos podem viver em sistema de simbiose na natureza em associações mutualísticas chamadas liquens. Neste sistema eles

desenvolvem mecanismos de sobrevivência, os quais podem não ser vistos individualmente. A produção de metabólitos secundários permite a sobrevivência em ambientes extremos, podendo aumentar a proteção contra os raios UV e a produção de substâncias antibacterianas. Além disso, foi também evidenciada uma alta atividade citostática, sugerindo um potencial anticâncer, além de relatos da produção de toxinas encontradas em liquens, reforçando o fato de que há interação ecológica entre as espécies (PAPAZI et al., 2015; SANTOS; REIS, 2014; SCHERLACH; GRAUPNER; HERTWECK, 2013; WREDE et al., 2014).

Atualmente buscam-se novas fontes de biocombustíveis naturais para dessa forma diminuir a poluição do meio ambiente, onde muitas espécies de cianobactérias já são comercializadas com esta finalidade (WREDE et al., 2014). Por este motivo, co-culturas de cianobactérias e fungos vêm sendo testadas com o intuito de aumentar a produção de polissacarídeos, visto como um processo tecnológico inovador para fins industriais e para fins medicinais com a obtenção de substâncias com potencial atividade biológica (ANGELIS et al., 2012; SANTOS; REIS, 2014; WREDE et al., 2014). Em outro estudo foi observado o aumento da produção de hidrogênio e consequentemente também de energia, o que reforça essa importância biotecnológica (PAPAZI et al., 2015).

Esta forma de co-cultura se torna mais fácil devido à alta eficiência de crescimento dos micro-organismos e de forma econômica sem adição de componentes químicos. A interação de cianobactérias e fungos pode ser evidenciada em alguns estudos onde foi notada a produção de novos polissacarídeos a partir da interação de ambos, com predominância na produção de metabólitos pelos fungos (ANGELIS et al., 2012; WREDE et al., 2014).

Um estudo promissor relatou que o fungo *Trichoderma citrinoviride*, isolado de floração de cianobactéria *Microcystis* em deterioração foi cultivado em laboratório em co-cultura com a espécie de cianobactéria *Microcystis aeruginosa*. O fungo foi capaz de inibir o crescimento da mesma, bem como da produção de microcistinas, que são substâncias potencialmente tóxicas quando ocorrem as florações. Este dado é muito interessante para controle de florações e degradação de toxinas, sendo uma possível alternativa a ser

testada, já que relatados de fungos como algicidas ainda é bastante inexplorado (MOHAMED; HASHEM; ALAMRI, 2014).

Sendo assim, de acordo com os interessantes relatos descritos, propusemos neste projeto realizar uma co-cultura entre a cianobactéria *Cyanobium* sp. CENA139 e uma cepa de fungo pertencente à família Xylariaceae, com a finalidade de observar a interação ecológica e química entre esses dois micro-organismos, a fim de verificar se houve produção de novos metabólitos secundários, que não seriam produzidos na ausência de estímulos.

–VI –

CONCLUSÕES

O estudo químico do fungo T68 Xylariaceae mostrou-se promissor, apontando para possível patogenicidade, uma vez que foi possível isolar a micotoxina esterigmatocistina, da classe das xantonas, bastante estudada devido ao potencial biológico.

Ainda, o estudo foi promissor em mostrar a interação ecológica ocorrida durante a co-cultura entre a cianobactéria *Cyanobium* sp. CENA139 e o fungo T68, uma clara competição, prevalecendo a cultura do fungo em detrimento da cianobactéria, produzindo novamente micotoxinas.

O estudo foi promissor ainda quanto ao potencial biolótico, uma vez que o extrato fúngico mostrou-se ativo tanto para fototoxicidade frente à linhagem 3T3, e a esterigmatocistina para fototoxicidade quanto para citotoxicidade frente às células tumorais HepG2.

Considerando que o estudo de cianobactérias de origem marinha no Brasil ainda é relativamente recente, o presente trabalho realizado no grupo de pesquisa de Química Orgânica do Ambiente Marinho, analisando as culturas isoladas e a co-cultura, tem muito a acrescentar à sociedade científica com os novos achados ao término deste projeto.

Referências

ANGELIS, S., et al. Co-culture of microalgae, cyanobacteria, and macromycetes for exopolysaccharides production: process preliminary optimization and partial characterization. **Appl Biochem Biotechnol** v. 167, n. 5, p. 1092-1106, 2012.

ARAUJO, L. W., et al. Manual: Isolamento de Micro-organismos endofíticos. Piracicaba: Ed. USP-ESALQ. 88p p. 2002.

BELLEM, F.; NUNES, S.; MORAIS, M. Cyanobacteria toxicity: potential public health impact in South Portugal populations. **J Toxicol Environ Health A** v. 76, n. 4-5, p. 263-271, 2013.

BERLINCK, R. G., et al. Challenges and rewards of research in marine natural products chemistry in Brazil. **J Nat Prod** v. 67, n. 3, p. 510-522, 2004.

BLUNT, J. W., et al. Marine natural products. **Nat Prod Rep** v. 32, n. 2, p. 116-211, 2015.

BLUNT, J. W., et al. Marine natural products. **Nat Prod Rep** v. 27, n. 2, p. 165-237, 2010.

BOUDREAU, P. D., et al. Viequeamide A, a cytotoxic member of the kulolide superfamily of cyclic depsipeptides from a marine button cyanobacterium. **J Nat Prod** v. 75, n. 9, p. 1560-1570, 2012.

CAI, S., et al. Sterigmatocystins from the deep-sea-derived fungus Aspergillus versicolor. **J Antibiot** v. 64, n. 2, p. 193-196, 2011.

CARMICHAEL, W. W. Cyanobacterial secondary metabolites- the cyanotoxins. **Journal of Applied Bacteriology** v. 72, p. 445-459, 1992.

CASTELANI, A. Further Researches on the long viability and growth of many pathogenic fungi and some bacteria in sterille distilled water. **Mycol. Appl** v. v. 20, p. p. 1-6, 1963.

CAVALCANTI, B. C., et al. Cytotoxicity and genotoxicity of ingenamine G isolated from the Brazilian marine sponge Pachychalina alcaloidifera. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol** v. 147, n. 4, p. 409-415, 2008.

CHOI, H.; PEREIRA, A. R.; GERWICK, W. The chemistry of marine algae and cyanobacteria. 1st edn ed. Dordrecht: Springer. p. 2012.

CUSTER, L. L.; SWEDER, K. S. The role of genetic toxicology in drug discovery and optimization. **Curr Drug Metab** v. 9, n. 9, p. 978-985, 2008.

DAVID, B.; WOLFENDER, J.-L.; DIAS, D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. **Phytochemistry Reviews** v. 14, n. 2, p. 299-315, 2015.

DAVIS, R. A.; PIERENS, G. K. 1H and 13C NMR assignments for two new xanthones from the endophytic fungus Xylaria sp. FRR 5657. **Magnetic Resonance in Chemistry** v. 44, n. 10, p. 966-968, 2006.

DE FELICIO, R., et al. Trypanocidal, leishmanicidal and antifungal potential from marine red alga Bostrychia tenella J. Agardh (Rhodomelaceae, Ceramiales). **J Pharm Biomed Anal** v. 52, n. 5, p. 763-769, 2010.

FLOREZ, L. V., et al. Defensive symbioses of animals with prokaryotic and eukaryotic microorganisms. **Nat Prod Rep** v. 32, n. 7, p. 904-936, 2015.

GERWICK, W. H.; FENNER, A. M. Drug discovery from marine microbes. **Microb Ecol** v. 65, n. 4, p. 800-806, 2013.

GERWICK, W. H.; MOORE, B. S. Lessons from the past and charting the future of marine natural products drug discovery and chemical biology. **Chem Biol** v. 19, n. 1, p. 85-98, 2012.

HUANG, S., et al. Impairment of cell cycle progression by sterigmatocystin in human pulmonary cells in vitro. **Food Chem Toxicol** v. 66, p. 89-95, 2014.

IARC. Sterigmatocystin. **IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Man** v. 10, p. 245-251, 1976.

KAEBERNICK, M.; NEILAN, B. A. Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. **FEMS Microbiol Ecol** v. 35, n. 1, p. 1-9, 2001.

KRALJ, A., et al. Arugosins G and H: prenylated polyketides from the marine-derived fungus Emericellanidulans var. acristata. **J Nat Prod** v. 69, n. 7, p. 995-1000, 2006.

KRAMER, J. A.; SAGARTZ, J. E.; MORRIS, D. L. The application of discovery toxicology and pathology towards the design of safer pharmaceutical lead candidates. **Nat Rev Drug Discov** v. 6, n. 8, p. 636-649, 2007.

LEAO, P. N., et al. Antitumor activity of hierridin B, a cyanobacterial secondary metabolite found in both filamentous and unicellular marine strains. **PLoS One** v. 8, n. 7, p. e69562, 2013.

LIEBSCH, M., et al. UV-induced effects. **Altern Lab Anim** v. 33 Suppl 1, p. 131-146, 2005.

LININGTON, R. G., et al. Antimalarial peptides from marine cyanobacteria: isolation and structural elucidation of gallinamide A. **J Nat Prod** v. 72, n. 1, p. 14-17, 2009.

LOZA, V.; PERONA, E.; MATEO, P. Molecular fingerprinting of cyanobacteria from river biofilms as a water quality monitoring tool. **Appl Environ Microbiol** v. 79, n. 5, p. 1459-1472, 2013.

MAYER, A. M., et al. The odyssey of marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective. **Trends Pharmacol Sci** v. 31, n. 6, p. 255-265, 2010.

MELO, R. S.; NEVES, M. H. B.; BAPTISTA, O. R. Cultivo axênico das cianobactérias marinhas Aphanothece halophytica Frémy, 1933 e Chroococcus minutus (Kützing) Nägeli, 1849. **Acta Botanica Brasilica** v. 25, p. 234-240, 2011.

MEVERS, E.; BYRUM, T.; GERWICK, W. H. Parguerene and precarriebowmide, two classes of lipopeptides from the marine cyanobacterium Moorea producens. **J Nat Prod** v. 76, n. 9, p. 1810-1814, 2013.

MEVERS, E., et al. Lipopeptides from the tropical marine cyanobacterium Symploca sp. **J Nat Prod** v. 77, n. 4, p. 969-975, 2014.

MILLER, B., et al. The marine cyanobacterial metabolite gallinamide A is a potent and selective inhibitor of human cathepsin L. **J Nat Prod** v. 77, n. 1, p. 92-99, 2014.

MOHAMED, Z. A.; HASHEM, M.; ALAMRI, S. A. Growth inhibition of the cyanobacterium Microcystis aeruginosa and degradation of its microcystin toxins by the fungus Trichoderma citrinoviride. **Toxicon** v. 86, p. 51-58, 2014.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods** v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

NISA, H., et al. Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: A review. **Microb Pathog** v. 82, p. 50-59, 2015.

NUNNERY, J. K.; MEVERS, E.; GERWICK, W. H. Biologically active secondary metabolites from marine cyanobacteria. **Curr Opin Biotechnol** v. 21, n. 6, p. 787-793, 2010.

PAPAZI, A., et al. Lichen symbiosis: nature's high yielding machines for induced hydrogen production. **PLoS One** v. 10, n. 3, p. e0121325, 2015.

PENESYAN, A.; KJELLEBERG, S.; EGAN, S. Development of novel drugs from marine surface associated microorganisms. **Mar Drugs** v. 8, n. 3, p. 438-459, 2010.

PEREIRA, A. R., et al. The carmaphycins: new proteasome inhibitors exhibiting an alpha,beta-epoxyketone warhead from a marine cyanobacterium. **Chembiochem** v. 13, n. 6, p. 810-817, 2012.

PEREIRA, R. C.; SOARES-GOMES, A. S. Biologia Marinha. Editora Interciência. p. 2009.

SALVADOR, L. A., et al. Potent elastase inhibitors from cyanobacteria: structural basis and mechanisms mediating cytoprotective and anti-inflammatory effects in bronchial epithelial cells. **J Med Chem** v. 56, n. 3, p. 1276-1290, 2013.

SANT'ANNA, C. L., et al. Identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras.: Editora Interciência. 58 p. 2006.

SANTOS, C. A.; REIS, A. Microalgal symbiosis in biotechnology. **Appl Microbiol Biotechnol** v. 98, n. 13, p. 5839-5846, 2014.

SCHERLACH, K.; GRAUPNER, K.; HERTWECK, C. Molecular bacteria-fungi interactions: effects on environment, food, and medicine. **Annu Rev Microbiol** v. 67, p. 375-397, 2013.

SCHUMACHER, M., et al. Gold from the sea: marine compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer. **Biotechnol Adv** v. 29, n. 5, p. 531-547, 2011.

SILVA, C. S., et al. Phylogeny of culturable cyanobacteria from Brazilian mangroves. **Syst Appl Microbiol** v. 37, n. 2, p. 100-112, 2014.

SINGH, R. K., et al. Cyanobacteria: an emerging source for drug discovery. **J Antibiot (Tokyo)** v. 64, n. 6, p. 401-412, 2011.

STROBEL, G., et al. Natural products from endophytic microorganisms. **J Nat Prod** v. 67, n. 2, p. 257-268, 2004.

TAN, L. T. Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery. **Phytochemistry** v. 68, n. 7, p. 954-979, 2007.

TAN, L. T.; OKINO, T.; GERWICK, W. H. Bouillonamide: a mixed polyketide-peptide cytotoxin from the marine cyanobacterium Moorea bouillonii. **Mar Drugs** v. 11, n. 8, p. 3015-3024, 2013.

TANG, Z.-Y., et al. Four new cytotoxic xanthones from Garcinia nujiangensis. **Fitoterapia** v. 102, p. 109-114, 2015.

UZAIR, B., et al. Exploring marine cyanobacteria for lead compounds of pharmaceutical importance. **ScientificWorldJournal** v. 2012, p. 179782, 2012.

VAN APELDOORN, M. E., et al. Toxins of cyanobacteria. **Mol Nutr Food Res** v. 51, n. 1, p. 7-60, 2007.

WREDE, D., et al. Co-cultivation of fungal and microalgal cells as an efficient system for harvesting microalgal cells, lipid production and wastewater treatment. **PLoS One** v. 9, n. 11, p. e113497, 2014.

YANG, J. Y., et al. Molecular networking as a dereplication strategy. **J Nat Prod** v. 76, n. 9, p. 1686-1699, 2013.

ZEGURA, B.; STRASER, A.; FILIPIC, M. Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins - a review. **Mutat Res** v. 727, n. 1-2, p. 16-41, 2011.

ZHANG, Y.; LI, X. M.; WANG, B. G. Nigerasperones A approximately C, new monomeric and dimeric naphtho-gamma-pyrones from a marine alga-derived endophytic fungus Aspergillus niger EN-13. **J Antibiot (Tokyo)** v. 60, n. 3, p. 204-210, 2007.

Sterigmatocystin. **IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Man** v. 10, p. 245-251, 1976.