

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Estudos sobre o metabolismo microbiano de naftoquinonas e
avaliação da citotoxicidade dos metabólitos obtidos**

Eliane de Oliveira Silva

Ribeirão Preto

2014

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Estudos sobre o metabolismo microbiano de naftoquinonas e
avaliação da citotoxicidade dos metabólitos obtidos**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas para obtenção do Título de
Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Produtos Naturais e
Sintéticos.

Orientada: Eliane de Oliveira Silva
Orientadora: Profa. Dra. Niece Araçari Jacometti Cardoso Furtado

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em 07/02/2014. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto

2014

RESUMO

SILVA, E. O. **Estudos sobre o metabolismo microbiano de naftoquinonas e avaliação da citotoxicidade dos metabólitos obtidos.** 2014. 187f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Muitas naftoquinonas como o lapachol, podem ser encontradas em plantas da família Bignoniaceae e são conhecidas por desempenharem diversas atividades biológicas, acompanhadas, entretanto, por efeitos indesejáveis. A atividade citotóxica apresentada pelas naftoquinonas está relacionada ao aparecimento de espécies reativas de oxigênio *in vivo* que causam severo estresse oxidativo no interior das células. O isolapachol e a atovaquona são análogos estruturais do lapachol, sendo que a atovaquona é comercializada como fármaco para o tratamento de malária e certos tipos de pneumonia. Devido ao grande potencial biológico apresentado pelas naftoquinonas, várias tentativas no sentido de obtenção de derivados desprovidos de efeitos colaterais vêm sendo realizadas. Além disso, a determinação da segurança e eficácia dos fármacos está intimamente ligada ao estudo da formação de derivados *in vivo* por ocasião do metabolismo. A utilização de fungos filamentosos na predição do metabolismo que os fármacos sofreriam após administração oral, bem como de bactérias do trato gastrointestinal, pode contribuir substancialmente para a elucidação da rota metabólica de fármacos fornecendo informações sobre a geração de substâncias farmacologicamente ativas, inativas ou tóxicas e ainda sobre a produção de substâncias capazes de inibir a biotransformação de outros fármacos. Estudos de biotransformação também podem contribuir para a obtenção de novos esqueletos químicos. Dessa forma, o presente trabalho relata estudos do metabolismo microbiano do lapachol e do seu sal de potássio por bactérias do trato gastrointestinal e fungos filamentosos, além da correlação desses com as reações que ocorrem quando o isolapachol e a atovaquona são utilizados como substratos para os mesmos micro-organismos. Os experimentos de biotransformação utilizando lapachol e seu sal de potássio foram conduzidos por até dez dias, em diferentes meios de cultura, empregando-se quatro linhagens de bactérias presentes no trato gastrointestinal, além de 11 linhagens de fungos filamentosos. Foram obtidos sete metabólitos, sendo dois inéditos e dois anteriormente detectados em estudos sobre o metabolismo do lapachol em mamíferos. Durante a realização dos experimentos com o fungo filamentoso *Aspergillus brasiliensis* verificou-se a capacidade desse fungo em mimetizar uma reação muito importante em química orgânica, conhecida como oxidação de Hooker. As condições mais promissoras para a biotransformação do lapachol foram utilizadas nos estudos com a atovaquona e o isolapachol. A biotransformação da atovaquona possibilitou, pela primeira vez, a caracterização estrutural de um metabólito desse fármaco. Já os estudos realizados com o isolapachol permitiram inferências sobre a especificidade enzimática apresentada pelos micro-organismos avaliados. Todos os metabólitos obtidos foram submetidos aos ensaios de citotoxicidade frente a linhagens celulares normais e tumorais, o que possibilitou obter conclusões sobre a relação estrutura-atividade e sobre a citotoxicidade seletiva apresentada pelos metabólitos. Destaca-se o resultado obtido com um dos metabólitos do lapachol, α -xiloidona, o qual se mostrou mais tóxico para a linhagem tumoral que o lapachol e não apresentou toxicidade frente à linhagem normal. O metabólito obtido a partir da biotransformação da atovaquona apresentou maior toxicidade não seletiva que a substância de partida.

Palavras-chave: Naftoquinona, Biotransformação, Citotoxicidade.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Quinonas

As quinonas são classificadas quimicamente em benzoquinona, 1,4- e 1,2-naftoquinona, e antraquinona (Figura 1). Esses compostos representam um grande grupo de substâncias presentes em muitas famílias de plantas, fungos, bactérias, e também no reino animal: em artrópodes (antraquinonas em insetos) e em equinodermas (quinonas isoprenoídicas em ouriços do mar) (MARTINEZ e BENITO, 2005; LEMOS et al., 2007).

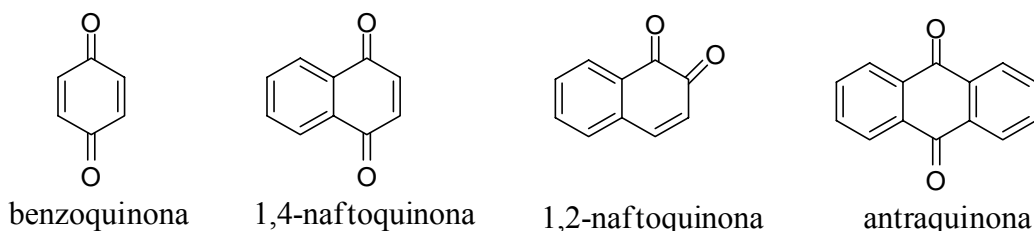


Figura 1. Classificação química das quinonas.

Entre os fármacos utilizados no tratamento do câncer, as naftoquinonas constituem o grupo mais importante (TONHOLO et al., 1998). Assim, por exemplo, entre os fármacos quimioterápicos mais utilizados estão doxorubicina, mitomicina e mitoxantrona, os quais possuem anel quinoidal em sua estrutura química (Figura 2) (SALUSTIANO et al., 2009; KOVACIC e SOMANATHAN, 2011).

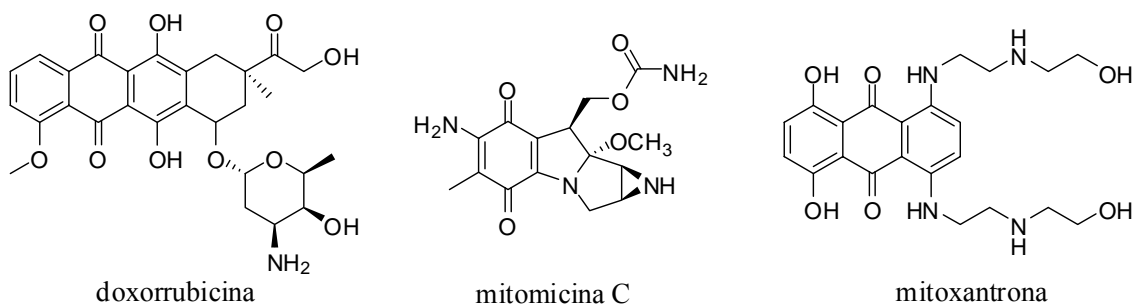


Figura 2. Estrutura química dos fármacos quimioterápicos detentores de anel quinona.

O principal mecanismo proposto para a citotoxicidade apresentada pelas quinonas está relacionado ao estresse oxidativo causado por esses compostos, mas a capacidade de alquilação de nucleófilos celulares também apresenta correlação com tais efeitos biológicos (GOULART et al., 2004). Uma característica notável da química das quinonas é a sua facilidade em sofrer redução, transformando-se na forma reativa, chamada de semiquinona (Figura 3). A semiquinona, *in vivo*, é capaz de transferir um elétron a lipídeos, proteínas ou DNA, causando o aparecimento das espécies reativas de oxigênio. Tais espécies causam severo estresse oxidativo no interior das células a partir da formação de macromoléculas oxidadas (CRAWFORD et al., 1997; KOYAMA et al., 2001; DA SILVA JÚNIOR et al., 2009a).

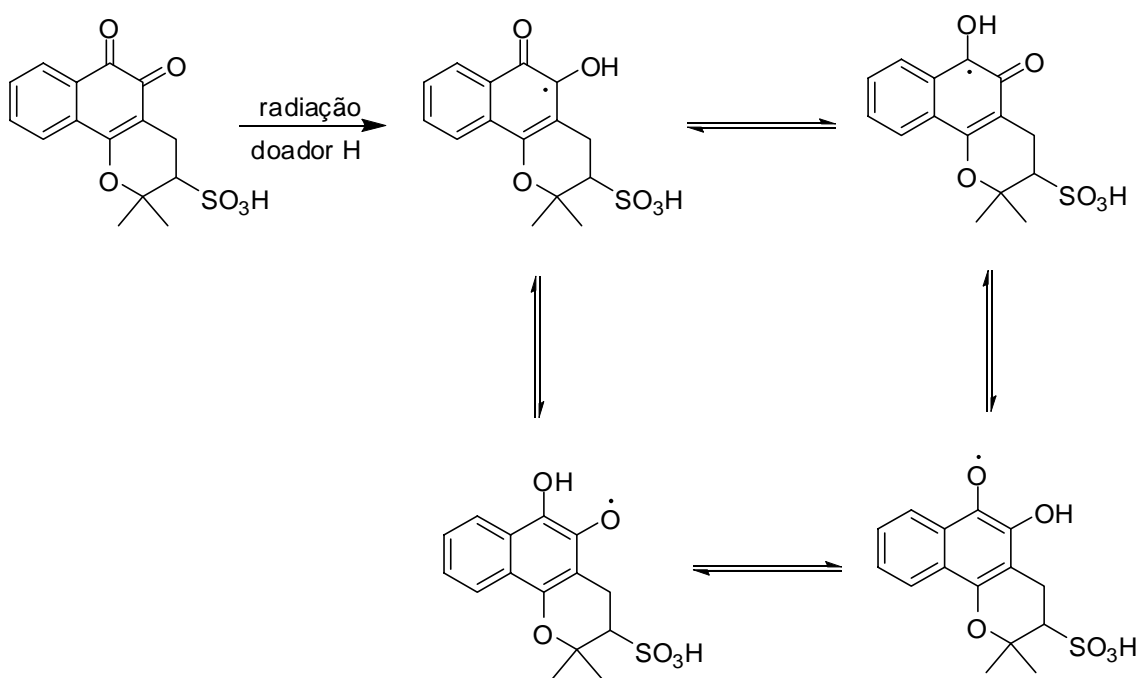


Figura 3. Formação de semiquinona após análogo da β -lapachona ter sido irradiado na presença de doador de hidrogênio (Fonte: NETTO-FERREIRA et al., 2010).

Muitas naftoquinonas bioativas, como o lapachol, são encontradas em plantas típicas da América do Sul, principalmente em árvores da família Bignoniaceae, podendo

representar cerca de 3-7% da composição em massa do caule dessas espécies (CASTELLANOS et al., 2009; AUCÉLIO et al., 2013). As atividades biológicas do lapachol vêm sendo estudadas desde o início de 1960, incluindo atividades contra *Mycobacterium tuberculosis* e outros micro-organismos (EYONG et al., 2012), atividade anti-inflamatória (LANDA et al., 2013), moluscicida (SILVA et al., 2005), antimalárica (KAPADIA et al., 2001), atividade contra *Trypanossoma cruzi* (SALAS et al., 2008), entre outras. As pesquisas relacionadas às bioatividades apresentadas pelo lapachol continuam até os dias atuais. Recentemente, os efeitos gastroprotetores do lapachol foram comprovados (THEODULOZ et al., 2012), bem como seu potencial antidepressivo (EYONG et al., 2013a).

Embora o lapachol tenha sido licenciado no Brasil para ser usado na prática clínica como fármaco carcinostático (DA SILVA JÚNIOR et al., 2009b), e vários estudos relacionados às suas propriedades anti-câncer tenham sido reportados, observou-se que altas doses de lapachol eram necessárias para a obtenção da eficácia terapêutica, resultando em muitos efeitos colaterais aos pacientes (SUNASSEE et al., 2013). Estudos clínicos de fase I foram desenvolvidos com o lapachol e revelaram sua atividade anticoagulante como efeito colateral, devido à sua similaridade estrutural com a vitamina K (Figura 4) (MAEDA et al., 2008). Por esse motivo, o uso do lapachol como coadjuvante no tratamento de alguns tipos de câncer foi suspenso (HUSSAIN et al., 2007).

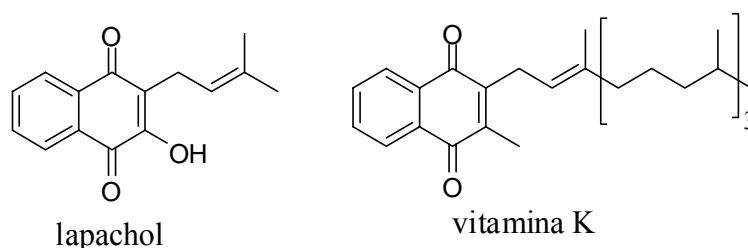


Figura 4. Semelhanças estruturais existentes entre lapachol e vitamina K.

A partir de então, muitos pesquisadores começaram a desenvolver estudos com os derivados do lapachol objetivando estabelecer relações de estrutura-atividade e a obtenção de derivados bioativos, porém desprovidos de efeitos indesejáveis (CAMARA et al., 2001; PARRILHA et al., 2012; KANDIOLLER et al., 2013). Em 2009, uma importante naftoquinona derivada do lapachol, a β -lapachona, foi submetida a estudos clínicos de fase II como fármaco antitumoral (DA SILVA JÚNIOR et al., 2009a).

O lapachol também está estruturalmente relacionado à atovaquona (Figura 5), a qual apresenta ampla atividade contra diferentes espécies de *Plasmodium*, *Pneumocystis* e *Toxoplasma* (ROLAN et al., 1997). A atovaquona foi descoberta após 50 anos de pesquisas e é amplamente usada nos Estados Unidos, em combinação com proguanil (Malarone[®]), no tratamento e quimioprofilaxia da malária (NIXON et al., 2013). *Plasmodium falciparum*, parasita que causa a malária em humanos, possui alta capacidade de mutação e desenvolve rapidamente resistência contra os fármacos antimaláricos clássicos (ANDRADE-NETO et al., 2004; KESSL et al., 2007). Atovaquona é um análogo lipofílico do lapachol, um importante componente da transferência de elétrons nas mitocôndrias (EL HAGE et al., 2009). Sua atividade antimalárica é seletiva e está relacionada com a interferência no transporte de elétrons nas mitocôndrias do parasita, especificamente no complexo citocromo c redutase, resultando em colapso mitocondrial (ZHOU et al., 2009). Após ser administrada, a atovaquona liga-se 99,9 % às proteínas plasmáticas (EL HAGE et al., 2009). Assim, diversos estudos focados na obtenção de derivados da atovaquona que apresentem melhor biodisponibilidade vêm sendo desenvolvidos (BARAMÉE et al., 2006; EL HAGE et al., 2009; ZHOU et al., 2009).

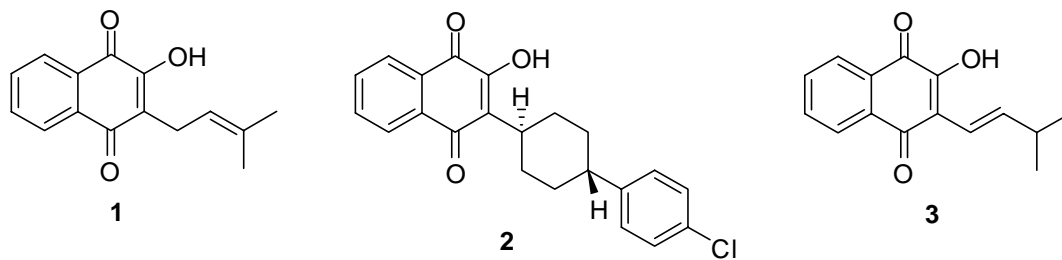


Figura 5. Estruturas químicas do lapachol (1), atovaquona (2) e isolapachol (3).

Outro importante análogo estrutural do lapachol é o isolapachol (Figura 5). Diversos estudos empregando o isolapachol na busca por derivados bioativos estão relatados, principalmente na busca por fármacos larvicidas e moluscidas. A toxicidade apresentada pelos derivados solúveis (sais de potássio) do lapachol e do isolapachol em diferentes estágios do ciclo de vida de *Schistosoma mansoni* foi avaliada por Lima e colaboradores. Ambos compostos mostraram significantes atividades contra formas adultas, cercárias e ovos. Quando o ensaio foi realizado com ovos de *Artemia salina* Leach, o sal de potássio do isolapachol mostrou-se altamente tóxico, enquanto o sal de potássio do lapachol não mostrou atividade (LIMA et al., 2002). As atividades do isolapachol contra *Leishmania amazonensis* e *Leishmania braziliensis* também são conhecidas (LIMA et al., 2004).

1.2 Biotransformação

Processos de biotransformação são utilizados pela humanidade há milhares de anos. Dados históricos apontam que a primeira biotransformação “verdadeira” ocorreu na antiga Babilônia com a transformação de etanol em ácido acético (vinagre) catalisada por *Acetobacter* (LERESCHE e MEYER, 2006).

Biotransformações são definidas como o uso de sistemas biológicos para realizar transformações químicas em substâncias que não constituem seus substratos naturais (HANSON, 1995). São também definidas como reações químicas catalisadas por

células microbianas (em crescimento ou em repouso) ou por enzimas isoladas de microorganismos (PERVAIZ et al., 2013).

Os processos de biotransformação apresentam inúmeras vantagens quando comparados aos correspondentes métodos químicos (QI-HE et al., 2009), sendo economicamente e ecologicamente competitivos (HUISMAN et al., 2002). Além disso, a utilização das enzimas microbianas possibilita reações quimio-, régio- e enantioseletivas (MA et al., 2011).

Adicionalmente, algumas reações que não são possíveis de serem realizadas por processos químicos tradicionais são facilmente obtidas com as transformações microbianas (GARCÍA-GRANADOS et al., 2004). Entre as diferentes transformações catalisadas por esses sistemas enzimáticos, a hidroxilação régio e enantioseletiva de carbonos não ativados é particularmente interessante, já que tal transformação é dificilmente obtida a partir dos métodos químicos clássicos (GHOUMARI et al., 2006).

A enantiosseletividade observada em muitas biotransformações propicia a obtenção de produtos enantiomericamente puros a partir de misturas racêmicas (resolução de misturas racêmicas). As reações de biotransformação podem ser conduzidas em temperatura amena e em condições normais de temperatura e pressão e, na maioria dos casos, não há necessidade de proteger grupos funcionais (PATEL, 2002).

Embora algumas enzimas importantes, como as que catalisam as reações de hidroxilação, já tenham sido isoladas, a utilização de organismos vivos nas reações de biotransformação ainda é a técnica mais utilizada (GARCÍA-GRANADOS et al., 2004). Em reações de redução, por exemplo, a maioria das enzimas requer cofatores como [NAD(H)] e [NADP(H)]. Em organismos vivos a regeneração desses cofatores ocorre naturalmente por processos metabólicos, tornando o método mais econômico e mais

eficiente (FABER, 1997). Além disso, há muitos sistemas enzimáticos difíceis de serem obtidos em uma forma isolada estável (HANSON, 1995).

Dessa forma, as transformações químicas catalisadas por micro-organismos são úteis na investigação acerca da obtenção de compostos bioativos, detentores de estruturas inéditas, que poderão ser empregados no desenvolvimento de novos fármacos. Além disso, as transformações microbianas podem ser empregadas na elucidação das reações que um fármaco sofrerá *in vivo* após ser administrado por via oral.

Um importante fator na avaliação da segurança e eficácia dos fármacos é o conhecimento sobre seu metabolismo, que pode ser avaliado empregando-se os micro-organismos. A realização de estudos sobre o metabolismo *in vivo* apresenta muitas desvantagens como o custo com os modelos animais, as questões éticas e as diferenças entre as espécies. Além disso, a toxicidade apresentada por muitos compostos limita a quantidade que pode ser administrada e, portanto pequenas quantidades de metabólitos podem ser isoladas. A expressão das enzimas da família do citocromo P450 humanas pode ser reproduzida com sucesso em sistemas utilizando biotransformações fúngicas, possibilitando assim muitos estudos sobre o metabolismo dos fármacos (MA, WU e GUO, 2006; ASHA e VIDYAVATHI, 2009).

A biotransformação de fármacos é geralmente considerada no processo de desintoxicação, formando metabólitos mais polares, os quais podem ser facilmente excretados. Entretanto, os processos de biotransformação podem também levar à formação de metabólitos detentores de maior atividade farmacológica ou mais tóxicos que a substância de origem. Assim, processos capazes de gerar metabólitos com atividade farmacológica significativa ou menor toxicidade, quando comparados à

molécula original, deveriam ser explorados durante a descoberta de novos fármacos (PERVAIZ et al., 2013).

A estratégia descrita acima foi utilizada na descoberta da ezetimiba, um inibidor da absorção do colesterol. Nesse estudo, um metabólito 30 vezes mais potente que a molécula de origem foi obtido (FURA, 2006).

As capacidades hidrolíticas e redutivas dos micro-organismos, especialmente fungos, têm sido bastante relatadas e usadas nas reações. Em relação às reações de oxidação, as hidroxilações nas posições 11 α ou 11 β de esteróides são reações clássicas catalisadas tanto por micro-organismos quanto por mamíferos, as quais mostram as semelhanças existentes entre as enzimas monooxigenases de ambos os sistemas (VENISETTY e CIDDEN, 2003). Assim, por exemplo, conhece-se a capacidade de fungos filamentosos em catalisar a biotransformação de progesterona a 11 α -hidroxi-progesterona (KHATTAB e ABD-EL SALAM, 2012).

L-homofenilalanina é extensivamente usada na indústria farmacêutica como precursor para a produção de fármacos inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA), os quais possuem significantes aplicações clínicas no tratamento da hipertensão (Figura 6). Vários métodos químicos vêm sendo relatados para a síntese de L-homofenilalanina. Entretanto, a necessidade de métodos complexos, altos custos e a poluição ambiental implicados em tal síntese, fazem com que o método de escolha para a produção de L-homofenilalanina seja a utilização da biocatálise utilizando as enzimas hidantoinase e carbamoilase para a biotransformação do ácido homofenilalanilcarbamoílico (AHMAD, OH e SHUKOR, 2009).

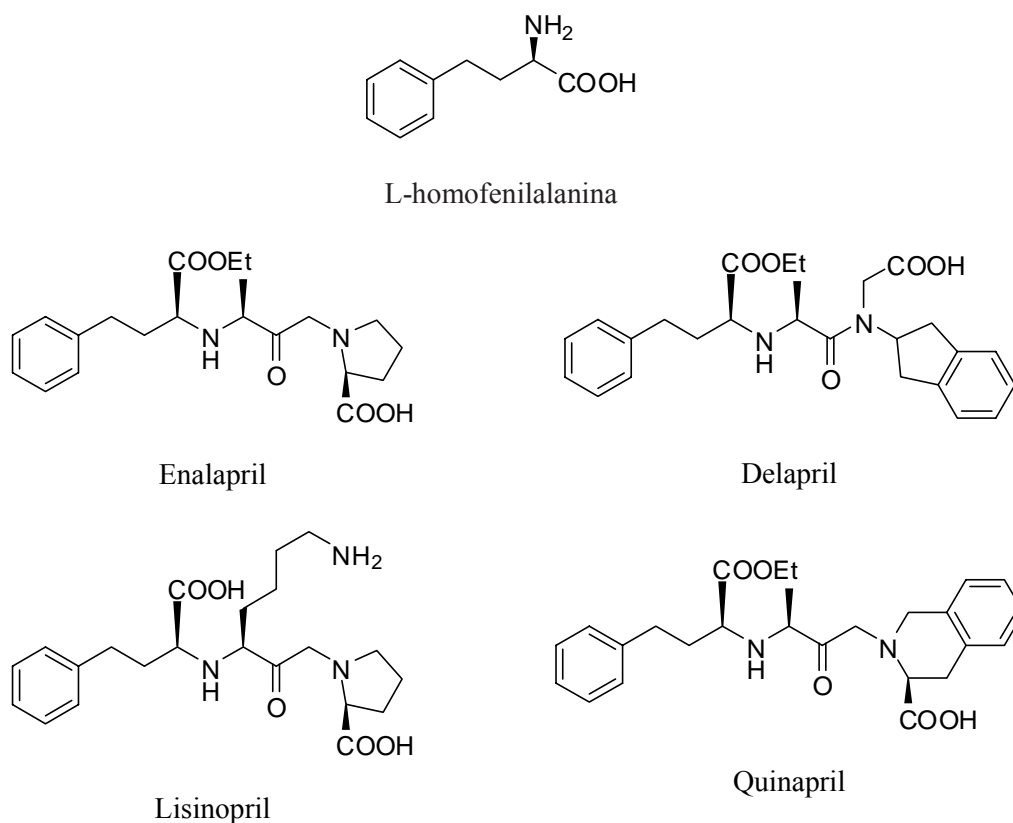


Figura 6. Exemplos de fármacos inibidores da ECA provenientes da L-homofenilalanina (Fonte: AHMAD, OH e SHUKOR, 2009).

Quando se analisa os dados disponíveis na literatura acerca dos estudos sobre a biotransformação de naftoquinonas, observa-se que há reduzido número de publicações. Nesse sentido, a naftoquinona INO5042 (Figura 7) foi utilizada como substrato para uma série de fungos e bactérias. Duas linhagens de *Streptomyces*, *S. platensis* e *S. cinnamonesis*, foram ativas na biotransformação e catalisaram o rompimento do anel quinona (FOSSE et al., 2004).

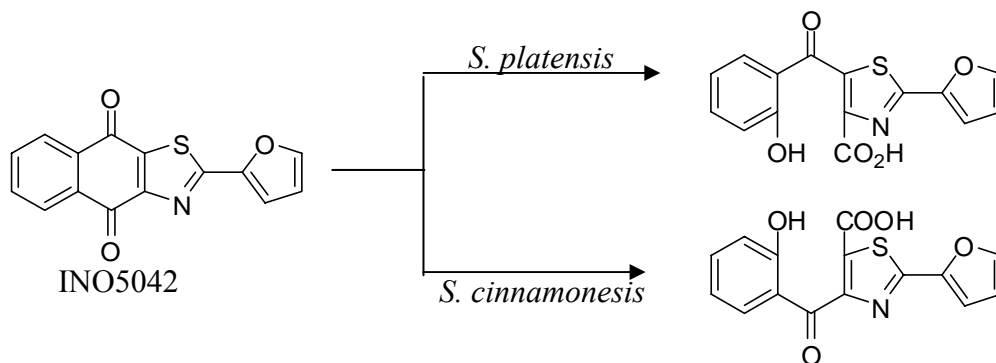


Figura 7. Biotransformação da naftoquinona INO5042 por duas linhagens de *Streptomyces* (Fonte: FOSSE et al., 2004).

A transformação bacteriana da naftoquinona chiquonina foi investigada utilizando bactérias intestinais humanas. No total, 24 anaeróbios foram avaliados e *Bacteroides fragilis* subsp. *thetaotus* mostrou a habilidade de transformar extensivamente tal naftoquinona (Figura 8) (MESELHY et al., 1994).

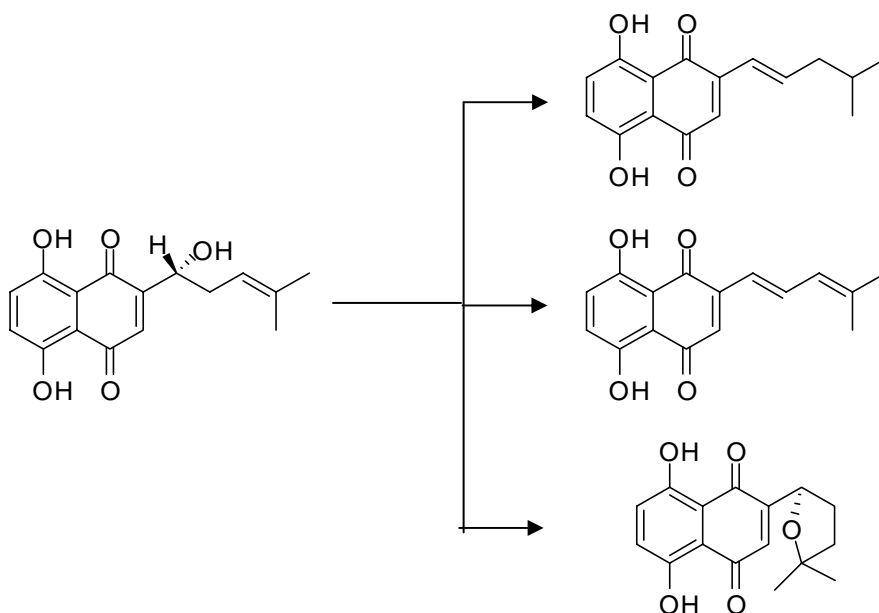


Figura 8. Biotransformação da chiconina por *Bacteroides fragilis* subsp. *thetaotus* (Fonte: MESELHY et al., 1994).

Em 2003, Venisetty e Ciddi publicaram uma revisão acerca das semelhanças existentes entre o metabolismo dos xenobióticos realizado por mamíferos e por fungos filamentosos, além de apontarem as vantagens implicadas na utilização de modelos

microbianos para a predição do metabolismo, o que contribui para o desenvolvimento de novos fármacos. Na Tabela 1 estão apresentadas algumas das comparações realizadas por tais pesquisadores.

Tabela 1. Comparação entre os metabólitos de mamíferos com os microbianos de alguns produtos naturais (Fonte: VENISETTY e CIDDI, 2003).

Produto natural	Atividade farmacológica	Micro-organismo/reacção	Metabólito detectado em mamífero
Testosterona	Hormônio sexual	<i>Mucor griseocynamus</i> ATCC 1207	2 α -Hidroxitestosterona
		14 α -OH testosterona, 14 α -OH androst-4-ene- 3,17-diona	16 α -Hidroxitestosterona 12-Hidroxitestosterona
		<i>Thamnostylum piriforme</i> ATCC 8992	14 α -OH progesterona, 9 α -OH testosterona
		<i>Botrytis cineria</i> 7 β ,17 β -diidroxiandrostan- 3-ona	
Progesterona	Hormônio sexual	<i>Thamnostylum piriforme</i> ATCC 8992	5 α -androstane-3 α -17 β -diol
		14 α -OH progesterona, 9 α -OH progesterona	3 α -OH-5 α -pregnanae-20- ona
		<i>Mucor griseocyanus</i> ATCC 1207	3 α ,17 α -diOH-5 α -pregnane- 20-ona
		14 α -OH progesterona, 7 α ,14 α , di-OH progesterona, 6 β , 14 α -OH progesterona	3 α ,6 α -diOH-5 α -pregnane- 20-ona
Camptotecina	Antitumoral	<i>Aspergillus sp.</i> 10-Hidroxicamptotecina	10-Hidroxicamptotecina
			Diidroxicamptotecina

Tabela 1. Continuação

Produto natural	Atividade farmacológica	Micro-organismo/reação	Metabólito detectado em mamífero
Artemisinina	Antimalárico	<i>Nocardia corallina</i> ATCC 19070 Desoxiartemisinina <i>Penicillium chrysogenum</i> ATCC 4480 3 α -OH desoxiartemisinina	3 α -OHdesoxiartemisinina Diidroartemisinina Desoxiartemisinina
Taxol (Paclitaxel)	Antitumoral	<i>Nocardioides albus</i> 13-deacilpaclitaxel	6 α -OH paclitaxel 3-OH paclitaxel 13-deacilpaclitaxel
Cafeína	Estimulante do Sistema Nervoso Central	<i>Pseudomonas putida</i> Teobromina 3-desmetil cafeína <i>Pencillium roqueforti</i> Degradação do anel imidazol	1-metilxantina 1-metil ácido úrico (degradação do anel imidazol)
Lapachol	Antitumoral, antibiótico	<i>Curvularia lunata</i> Deidro- α -lapachona <i>Beauvaria bassiana</i> Lomatiol Ácido lomático Acetato de lomatiol	Lomatiol Ácido lomático Formação de glicuronídeo

1.3 Fungos filamentosos

Os fungos são os sistemas celulares mais frequentemente estudados para a aplicação nas reações de biotransformação (MA et al., 2011), pois estes possuem enzimas capazes de catalisar grande variedade de reações, tais como: hidroxilação, oxidação, redução, epoxidação, O-desmetilação, O-desalquilação, O-metilação, glicosilação, entre outras (SRISILAM e VEERESHAM, 2003).

Em 1974, Smith e Rosazza foram os primeiros a propor o uso dos fungos como modelo para o metabolismo dos mamíferos. O metabolismo dos xenobióticos em mamíferos ocorre principalmente no fígado, onde as enzimas ali presentes promovem

reações que aumentam a polaridade dos produtos facilitando a excreção. Os metabólitos obtidos usando fungos filamentosos são similares àqueles obtidos em reações de fase I (funcionalização) ou fase II (conjugação) catalisadas pelas enzimas do fígado (KUTRZEBA et al., 2009).

Entre os fungos filamentosos, os Mucorales são amplamente espalhados na natureza e compõe a maior ordem dentro dos Zigomicetos, englobando importantes gêneros como *Absidia*, *Mucor* e *Rhizopus*. Estes são micro-organismos de rápido crescimento e o micélio é descrito como “semelhante ao algodão”. Durante a reprodução assexuada há formação de esporos nos esporangióforos e, na reprodução sexual, aparecem os zigósporos (HOLLMANN et al., 2008). Algumas espécies de *Mucor* são muito usadas em biotecnologia devido à produção de enzimas com alta atividade proteolítica e lipolítica (MA et al., 2011).

O dimorfismo é uma característica relativamente comum apresentada por diversos fungos que ora apresentam-se sob a forma leveduriforme, ora sob a forma filamentosa (LÜBBEHÜSEN, NIELSEN e MCINTYRE, 2003). O dimorfismo que aparece nos Mucorales é um processo de diferenciação que envolve uma série de eventos, nos quais estímulos internos são recebidos por sensores celulares e produzem como resposta alterações morfológicas nas células. O estabelecimento de ambiente microaerófilo causa alterações no potencial redox das células, provocando a transição da forma micelial para leveduriforme (RUIZ-HERRERA, 1993). Sabe-se que sob baixos níveis de glicose ou dióxido de carbono, ou ambos, o desenvolvimento sob a forma de hifas é predominante; por outro lado, sob altos níveis, ocorre eliciação do desenvolvimento sob a forma de leveduras (BARTNICKI-GARCIA, 1968).

Dentre os fungos filamentosos empregados nos estudos de biotransformação, o gênero *Mucor* é um dos mais empregados. Quando *Mucor circinelloides* f. *griseo-*

cyaneus IFO 4563 foi utilizado na biotransformação do antibiótico claritromicina (Figura 9A), um derivado 14-*R*-hidroxilado foi obtido, sendo que tal transformação reduziu a atividade antimicrobiana *in vitro* (SASAKI et al., 1988). O agente citotóxico daunomicina (Figura 9B) foi biotransformado por *Mucor spinosus* de forma similar ao que ocorre no metabolismo de mamíferos: o grupo carbonílico da posição C-13 foi reduzido à hidroxila (MARSHALL et al., 1978). *Mucor circinelloides* AS 3.3421, foi capaz de hidroxilar ondansetrona (Figura 9C), um antagonista de receptores 5-hidroxitriptamina, na posição C-1 (DUAN et al., 2006). A gastrodina (Figura 9D), produto natural com diversas atividades neurológicas, foi completamente metabolizada por *Mucor spinosus* 3.3450, com a formação do álcool *p*-hidroxibenzílico (ZHAN et al., 2001). A biotransformação do agente neuroléptico risperidona (Figura 9E) por *Mucor rouxii* NRRL 1894 mostrou ser enantiosseletiva com a formação de um metabólito ativo quiral (JESUS et al., 2011). O albendazol (Figura 9F) é um agente anti-helmíntico de amplo espectro. Sua biotransformação por *Mucor rouxii* NRRL 1894 mostrou ser uma excelente alternativa na obtenção de enantiômeros com bons rendimentos (HILÁRIO et al., 2012). Os exemplos descritos anteriormente mostram quão grande é a versatilidade dos fungos filamentosos do gênero *Mucor* em realizar transformações químicas nos substratos.

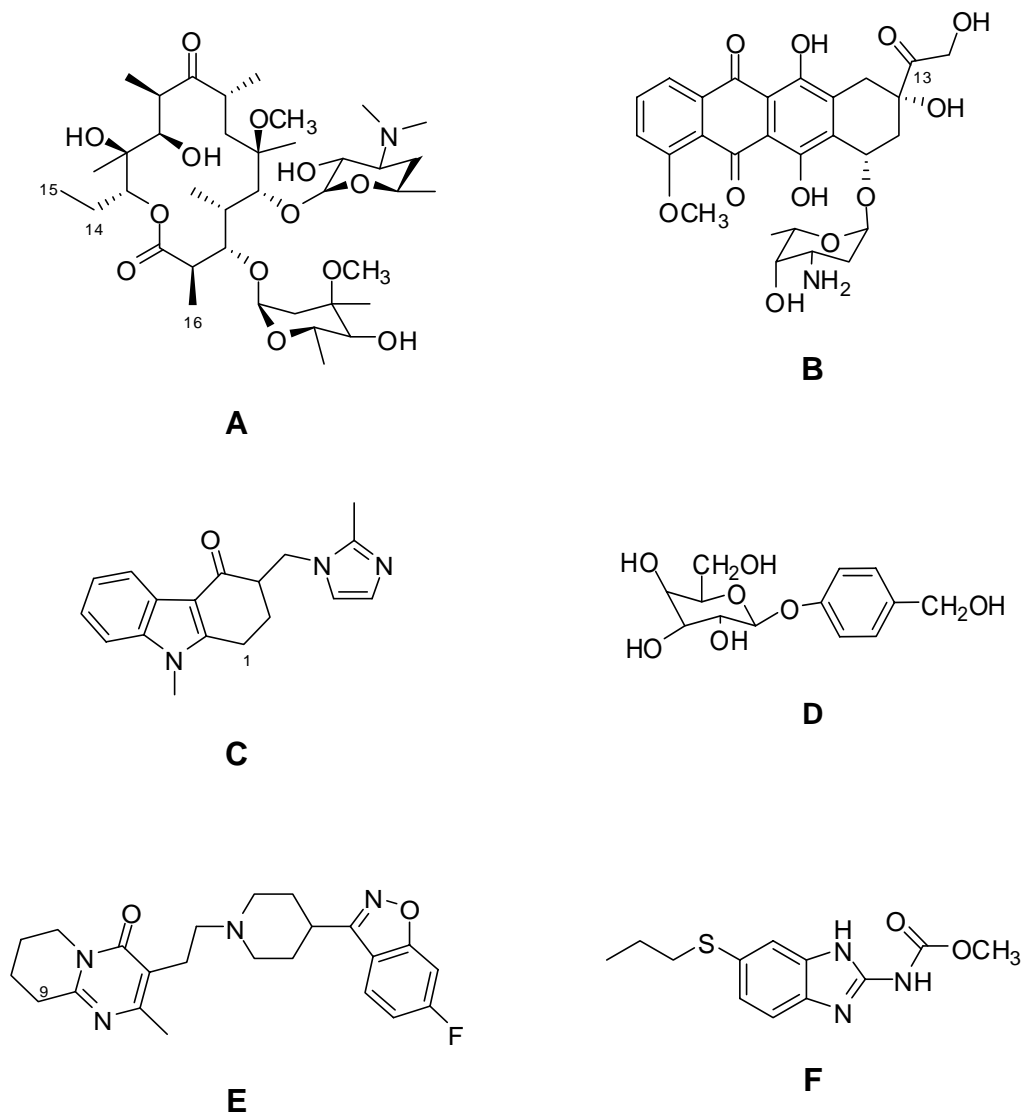


Figura 9. Diferentes fármacos empregados nas biotransformações catalisadas por *Mucor* sp.

Fungos do gênero *Aspergillus* também são amplamente utilizados em biotecnologia para a produção de ingredientes alimentares ou farmacêuticos, além de enzimas industriais. Tais fungos exibem grande versatilidade metabólica, desenvolvendo-se em uma ampla quantidade de substratos e sob diferentes condições ambientais. Estes são capazes de degradar diferentes compostos graças às suas enzimas que realizam reações como oxidações, hidroxilações e desmetilações (PEL et al., 2007).

Um estudo empregando *Aspergillus niger* na biotransformação do ácido ent-pimaradienóico foi recentemente relatado. Nesse trabalho, os autores obtiveram quatro derivados, cujas principais reações ocorridas foram hidroxilações, desidrogenações e migrações das insaturações. Um dos metabólitos obtidos, metil 7 α -hidroxi ent-pimara-8(14),15-dien-19-oato (Figura 10), apresentou eficiente atividade antiespasmódica (SEVERIANO et al., 2013).

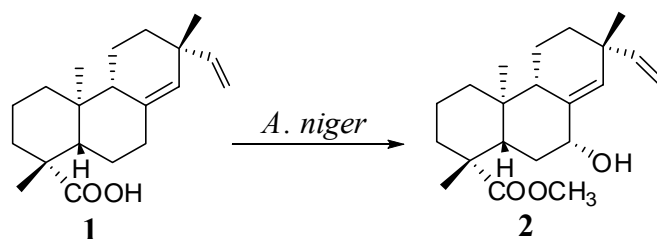


Figura 10. Transformação de ácido ent-pimaradienóico (1) em metil 7 α -hidroxi ent-pimara-8(14),15-dien-19-oato (2) por *A. niger* (Fonte: SEVERIANO et al., 2013).

Em relação ao gênero *Botrytis*, a espécie mais conhecida é a *cinerea* (STAATS, VAN BAARLEN e VAN KAN, 2005). O mofo cinzento ocasionado pelo fungo *B. cinerea* (Persoon) é uma fitopatogenia bastante comum e observada em pelo menos 235 plantas, principalmente dicotiledôneas e monocotiledôneas não gramináceas (JARVIS, 1977). A infecção causada por este fungo na planta hospedeira é intermediada por numerosas enzimas extracelulares e metabólitos secundários, tendo cada um destes um papel importante durante o processo de infecção (ELAD, MALATHRAKIS e DIK, 2004; COLLADO, SÁNCHEZ e HANSON, 2007). Diversos metabólitos secundários obtidos de processos fermentativos de *B. cinerea* apresentaram atividade fitotóxica e apoptótica (COLLADO et al., 2000).

As atividades antifúngicas dos sesquiterpenos patchoulol, ginsenosol, cedrol e globulol frente a *B. cinerea* são conhecidas. Quando tais sesquiterpenos foram biotransformados por *B. cinerea*, ocorreu a diminuição do efeito inibitório, sugerindo a

associação do mecanismo de desintoxicação usado por aquele fungo ao processo de biotransformação. As principais reações catalisadas por *B. cinerea* nos sesquiterpenos avaliados foram hidroxilações (ALEU et al., 2001).

Os fungos filamentosos também podem ser empregados na predição do metabolismo *in vivo* de fármacos. Vários estudos vêm demonstrando que espécies de *Cunninghamella* possuem sistema enzimático análogo ao do citocromo P450 de mamíferos. Tratam-se de fungos filamentosos encontrados no solo e em plantas, principalmente em zonas subtropicais e na região do Mediterrâneo. O gênero contém 14 espécies, sendo *Cunninghamella elegans*, *Cunninghamella echinulata* e *Cunninghamella bertholletiae* as mais comuns (ASHA e VIDYAVATHI, 2009).

A existência do citocromo P450 foi proposta em 1970, sendo provavelmente a forma usada por micro-organismos primitivos em processos de detoxificação. O estudo do sistema P450 de fungos filamentosos é de grande interesse acadêmico, pois oferece possibilidades no entendimento sobre a participação do citocromo P450 humano no metabolismo de xenobióticos (papel na farmacologia e toxicologia). Além disso, o citocromo P450 de micro-organismos é capaz de catalisar uma grande quantidade de reações, exercendo papel chave na produção de produtos naturais, em processos de biorremediação e biocatálise, bem como funcionando como alvo de alguns fármacos. Muitas bactérias são desprovidas do citocromo P450, como por exemplo, *Escherichia coli*, enquanto outras o possuem em quantidade bastante reduzida, como os micro-organismos probióticos (KELLY e KELLY, 2013).

1.4 Bactérias lácticas

As bactérias lácticas também são conhecidas como probióticas, sendo definidas como suplementos microbianos vivos capazes de gerar benefícios à saúde do hospedeiro

quando ingeridos em quantidade apropriada (FAO/WHO, 2002). Em condições fisiológicas normais, tais bactérias não se encontram no estômago, dadas as suas condições de acidez (HAEBERLIN e FRIEND, 1992; FAIGLE, 1993). O número de micro-organismos aumenta gradualmente ao longo do intestino delgado e encontra a sua expressão máxima em torno da válvula ileocecal (FAIGLE, 1993).

Atualmente são conhecidas mais de 800 espécies de bactérias que habitam o cólon e entre estas estão *Bifidobacterium* sp. e *Lactobacillus* sp. (VAN DER MOOTER e KINGET, 1995; BACKHED et al., 2005). São notáveis suas capacidades de metabolizar fármacos e outros xenobióticos (YANG, CHU e FIX, 2002), como por exemplo omeprazol, digoxina, clonazepam, insulina e prontosil (SOUSA et al., 2008). Além disso, estudos sobre processo de detoxificação utilizando bactérias probióticas também vêm sendo realizados (YOUNG et al., 2007; GUAN et al., 2009; MECA, RITIENI e MAÑES, 2012). Quando os fármacos entram em contato com a microbiota gastrointestinal, eles podem tornar-se farmacologicamente ativos, inativos ou tóxicos (BASIT e LACEY, 2001). As enzimas microbianas transformam compostos exógenos em substâncias benéficas, como no caso dos fitoestrógenos (RAIMONDI et al., 2009) ou prejudiciais (derivados tóxicos, mutagênicos ou carcinogênicos). Dessa forma, a ação da microbiota sobre fármacos deveria integrar os procedimentos para desenvolvimento de novos medicamentos no mundo todo (SOUSA et al., 2008).

Estudos empregando as enzimas produzidas pelas bactérias intestinais humanas vêm sendo realizados. Assim, em estudos empregando lignanas glicosiladas, reações de deglicosilação e desmetilação foram observadas (CLAVEL et al., 2006). Quando o metabolismo de aminas aromáticas carcinogênicas foi investigado, metabólitos hidroxilados atóxicos foram obtidos (VANHAECKE et al., 2008). Várias doenças inflamatórias afetam o intestino e o tratamento utilizando pró-fármacos é uma

abordagem útil. O sucesso do tratamento é garantido pela ação das enzimas produzidas pelos micro-organismos do trato gastrointestinal que liberam o fármaco ativo (YANG, CHU e FIX, 2002).

Em contraste com a predominância do metabolismo oxidativo e conjugativo que ocorre na mucosa do fígado e do intestino, o metabolismo bacteriano é composto, em grande parte, por degradação hidrolítica e redutora com um grande potencial para a ativação metabólica e desintoxicação de xenobióticos (ILETT et al., 1990).

Micro-organismos do gênero *Bifidobacterium* exercem muitos efeitos benéficos no hospedeiro e estão sendo cada vez mais utilizados em alimentos funcionais e produtos farmacêuticos (RAIMONDI et al., 2009).

O gênero *Lactobacillus* distribui-se por vários nichos ecológicos, constituindo importante parte da microbiota dos tratos intestinal e genital do homem e de animais superiores. Sua distribuição é afetada por vários fatores ambientais como pH, disponibilidade de oxigênio, quantidade de substrato, presença de secreções e interações bacterianas. Raramente estão associados a casos de infecção gastrointestinal e extraintestinal, sendo considerados micro-organismos não-patogênicos capazes de promover a saúde do trato gastrointestinal e geniturinário humano (GOMES e MALCATA, 1999).

5. CONCLUSÕES

As análises dos resultados obtidos permitiram tecer inúmeras conclusões e observações que podem ser agregadas ao conhecimento sobre o metabolismo *in vitro* de diferentes naftoquinonas.

Os ensaios de concentração inibitória mínima foram cruciais ao permitir a utilização das concentrações máximas dos substratos, sem comprometer a viabilidade de cada micro-organismo. Outro fator que se mostrou importante para o sucesso das reações de biotransformação foi a padronização do crescimento dos micro-organismos, o que possibilitou a adição dos substratos na fase estacionária de crescimento, na qual as enzimas produzidas apresentam, em geral, menor especificidade.

As reações de biotransformação do lapachol não foram influenciadas pela solubilidade do substrato no meio aquoso, nem pelo tempo de cultivo ou pela composição do meio de cultura. Tais observações mostram que a expressão das enzimas dos micro-organismos avaliados não foi influenciada por nenhuma dessas variáveis.

Foram observadas também algumas coincidências na atividade enzimática de alguns fungos filamentosos, pois muitos deles metabolizaram o lapachol de forma semelhante, produzindo metabólitos idênticos, porém com rendimentos variáveis. A comparação desses metabólitos com os detectados no metabolismo de mamíferos mostrou o potencial de vários desses fungos em mimetizar o metabolismo catalisado pelas enzimas do citocromo P450 de mamíferos.

Durante a realização de estágio no exterior, verificou-se que fungos filamentosos pertencentes ao mesmo gênero e espécie, porém de linhagens diferentes, biotransformaram o lapachol da mesma maneira.

Objetivando-se avaliar o metabolismo intestinal *in vitro* do lapachol e de seu sal de potássio, bactérias do trato gastrointestinal humano foram também utilizadas nos

estudos de biotransformação. A bactéria *E. coli* não foi capaz de metabolizar nenhum dos substratos. *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp. foram empregados em culturas isoladas e também em culturas mistas com *S. salivarius* subsp. *thermophilus*, metabolizando o lapachol de forma diferente. Não foram observadas alterações no perfil metabólico quando a solubilidade do substrato ou o tempo de cultivo foram alterados. Esses últimos resultados mostraram que há algumas semelhanças entre os sistemas enzimáticos dos fungos filamentosos e das bactérias lácticas aqui avaliadas, uma vez que ocorreram semelhanças em alguns estudos.

Cinco metabólitos do lapachol foram isolados e suas estruturas químicas foram determinadas, sendo um deles nunca relatado na literatura. Os mesmos metabólitos foram submetidos aos ensaios de citotoxicidade frente a células tumorais e normais. Conclusões acerca da relação estrutura-atividade podem ser inferidas devido a observação de que a manutenção dos grupos cetônicos do anel quinona foi indispensável para o aparecimento das atividades citotóxicas. Atividade citotóxica mais proeminente contra células tumorais do que a exibida pelo lapachol foi observada para um dos metabólitos fruto da ciclização oxidativa da cadeia alifática.

A biotransformação do lapachol por *A. brasiliensis* foi estudada mais profundamente, com a determinação da cinética de produção dos metabólitos. Esse estudo possibilitou o isolamento de dois outros metabólitos e a conclusão que o fungo *A. brasiliensis* é capaz de transformar o lapachol da mesma forma que a oxidação de Hooker, uma importante reação em química orgânica.

Quando se analisa a literatura sobre os estudos de farmacocinética empregando a atovaquona, observa-se que nunca nenhum metabólito foi detectado e/ou identificado. No trabalho aqui descrito, foi possível isolar e determinar a estrutura química de um metabólito, cujos espectros de RMN revelaram alterações no anel quinona com

formação de um grupamento ácido carboxílico. A determinação da estrutura química desse metabólito pode contribuir na elucidação do metabolismo que a atovaquona pode estar sofrendo *in vivo*. As atividades citotóxicas frente a células tumorais e normais mostraram que as alterações estruturais aumentaram não-seletivamente a citotoxicidade desse metabólito em comparação com a apresentada pela atovaquona.

Quando o isolapachol foi empregado nos estudos de biotransformação, foram feitas conclusões acerca da especificidade enzimática apresentada pelos fungos filamentosos e bactérias do trato gastrointestinal. Nenhuma bactéria biotransformou o isolapachol. Todos os fungos filamentosos avaliados metabolizaram o isolapachol e produziram o mesmo metabólito verificado quando o lapachol foi empregado como substrato. Todas as biotransformações do isolapachol apresentaram menor rendimento na obtenção dos metabólitos, em comparação com os mesmos experimentos realizados usando lapachol, exceto quando *A. brasiliensis* foi empregado. Tais observações revelam que alterações na posição da instauração da cadeia alifática de tais naftoquinonas implicam em inibições enzimáticas.

Finalmente, observou-se quão importante são os experimentos de biotransformação utilizando micro-organismos para a predição do metabolismo dos xenobióticos, bem como para a obtenção de novos esqueletos químicos e/ou moléculas biologicamente ativas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, A. L.; OH, P. C.; ABD SHUKOR, S. R. Sustainable biocatalytic synthesis of L-homophenylalanine as pharmaceutical drug precursor. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 286-296, 2009.

ALEU, J.; HANSON, J. R.; HERNANDEZ GALAN, R.; COLLADO, I. G. Biotransformation of the fungistatic sesquiterpenoids patchoulol, ginsenol, cedrol and globulol by *Botrytis cinerea*. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 11, n. 4-6, p. 329-334, 2001.

ANDRADE-NETO, V. F.; GOULART, M. O. F.; DA SILVA FILHO, J. F.; DA SILVA, M. J.; PINTO, M. C. F. R.; PINTO, A. V.; ZALIS, M. G.; CARVALHO, L. H.; KRETTLI, A. U. Antimalarial activity of phenazines from lapachol, β -lapachone and its derivatives against *Plasmodium falciparum* in vitro and *Plasmodium berghei* in vivo. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 5, p. 1145 – 1149, 2004.

ASHA, S.; VIDYAVATHI, M. *Cunninghamella* - A microbial model for drug metabolism studies-A review. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 16-29, 2009.

AUCÉLIO, R. Q.; PERÉZ-CORDOVÉS, A. I.; LIMA, J. L. X.; FERREIRA, A. B. B.; GUAS, A. M. E.; SILVA, A. R. Determination of lapachol in the presence of other naphthoquinones using 3MPA-CdTe quantum dots fluorescent probe. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 100, p. 155 - 160, 2013.

BACKHED, F.; LEY, R. E.; SONNENBURG, J. L.; PETERSON, D. A.; GORDON, J. I. Host bacterial mutualism in the human intestine. **Science**, v. 307, n. 5717, p. 1915 – 20, 2005.

BARAMEE, A.; COPPIN, A.; MORTUAIRE, M.; PELINSKI, L.; TOMAVO, S.; BROCARD, J. Synthesis and in vitro activities of ferrocenic aminohydroxynaphthoquinones against *Toxoplasma gondii* and *Plasmodium falciparum*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 5, p. 1294 – 1302, 2006.

BARROSO, E.; SÁNCHEZ-PATÁN, F.; MARTÍN-ALVAREZ, P. J.; BARTOLOMÉ, B.; MORENO-ARRIBAS, M. V.; PELÁEZ, C.; REQUENA, T.; VAN DE WIELE, T.; MARTÍNEZ-CUESTA, C. M. *Lactobacillus plantarum* IFPL935 Favors the Initial Metabolism of Red Wine Polyphenols When Added to a Colonic Microbiota. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 10163–10172, 2013.

BARTNICKI-GARCIA, S. Control of dimorphism in *Mucor* by hexoses: inhibition of hyphal morphogenesis. **Journal of Bacteriology**, v. 96, p. 1586 - 1594, 1968.

BASIT, A. W.; LACEY, L. F. Colonic metabolism of ranitidine: implications for its delivery and absorption. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 227, n. 1 - 2, p. 157 – 165, 2001.

CAMARA, C. A.; PINTO, A. C.; ROSA, M. A.; VARGAS, M. D. Secondary amines and unexpected 1-aza-anthraquinones from 2-methoxylapachol. **Tetrahedron**, v. 57, n. 47, p. 9569 – 9574, 2001.

CASTELLANOS, G.; RUBEN, J.; PRIETO, J. M.; HEINRICH, M. Red Lapacho (*Tabebuia impetiginosa*) - A global ethnopharmacological commodity? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, n. 1, p. 1 - 13, 2009.

CHARTERIS, W.P.; KELLY, P.M.; MORELLI, L.; COLLINS, J.K. Ingredient selection criteria for probiotic microorganisms in functional dairy foods. **International Journal Dairy Technology**, v. 51, n. 4, p. 123-136, 1998.

CLAVEL, T.; BORRMANNA, D.; BRAUNEA, A.; DORE, J.; BLAUT, M. Occurrence and activity of human intestinal bacteria involved in the conversion of dietary lignans. **Anaerobe**, v. 12, n. 3, p. 140 – 147, 2006.

CLSI (2006) **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**; approved standard CLSI document M7-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.

CLSI (2007) **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**; approved standard CLSI document M11-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.

CLSI (2008) **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**; approved standard CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.

COLLADO, I. G.; ALEU, J.; HERNANDEZ-GALAN, R.; DURAN-PATRON, R. *Botrytis* Species: An Intriguing Source of Metabolites with a Wide Range of Biological Activities. Structure, Chemistry and Bioactivity of Metabolites Isolated from *Botrytis* Species. **Current Organic Chemistry**. v. 4, n. 12, p. 1261 - 1286, 2000.

COLLADO, I.G.; SÁNCHEZ, A.J.M.; HANSON, J.R. Fungal terpene metabolites: biosynthetic relationships and the control of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. **Natural Products Report**. v. 24, p. 674 - 686, 2007.

COLLINS, D. O.; RUDDOCKA, P. L. D.; GRASSEA, J. C.; REYNOLDS, W. F.; REESE, P. B. Microbial transformation of cadina-4,10(15)-dien-3-one, aromadendr-1(10)-en-9-one and methyl ursolate by *M. plumbeus* ATCC 4740. **Phytochemistry**, v. 59, p. 479 - 488, 2002.

CRAWFORD, P. W.; GROSS, J.; LAWSON, K.; CHENG, C. C.; DONG, Q.; LIU, D. F.; LUO, Y. L.; SZCZEPANKIEWICZ, B. G.; HEATHCOCK, C. H. Electrochemical properties of some biologically active quinone derivatives: furanquinones, pyridoquinones, and diplamine, a cytotoxic pyridoacridine alkaloid. **Journal of the electrochemical society**, v. 144, n. 11, p. 3710 – 3715, 1997.

CUNHA-FILHO, M. S. S.; ESTÉVEZ-BRAUN A.; PÉREZ-SACAU, E.; ECHEZARRETA-LÓPEZ, M. M.; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; LANDÍN, M. Light effect on the stability of b-lapachone in solution: pathways and kinetics of degradation. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 63, p. 1156 – 1160, 2011.

DA SILVA JÚNIOR, E. N.; DE MOURA, M. A. B. F.; PINTO, A. V.; PINTO, M. C. F. R.; DE SOUZA, M. C. V. B.; ARAÚJO, A. J.; PESSOA, C.; COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; DE MORAES, M. O.; FERREIRA, V. F.; GOULART, M. O. F. Cytotoxic, Trypanocidal Activities and Physicochemical Parameters of *nor*- β -Lapachone-based 1,2,3-Triazoles. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 4, p. 635 - 643, 2009a.

DA SILVA JÚNIOR, E. N.; PINTO, M. C. F. R.; DE MOURA, K. C. G.; DE SIMONE, C. A.; NASCIMENTO, C. J.; ANDRADE, C. K. Z.; PINTO, A. V. Hooker's 'lapachol peroxide' revisited. **Tetrahedron Letters**, v. 50, n. 14, p. 1575 – 1577, 2009b.

DAVID, L.; GAYET, J. C.; VESCHAMBRE, H. Microbiological conversion of lapachol by various microorganisms. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 49, n. 9, p. 2693-2698, 1985.

DE MAN, J. D.; ROGOSA, M.; SHARPE, M. E. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 23, p. 130 – 135, 1960.

DINTER, D.; GAJSKI, G.; GARAJ-VRHOVAC, V. An alkaline comet assay study on the antimalarial drug atovaquone in human peripheral blood lymphocytes: a study based on clinically relevant concentrations. **Journal of Applied Toxicology**, v. 33, p. 56 – 62, 2013.

DUAN, M.; HUANG, H.; LI, X.; CHEN, X.; ZHONG, D. Assignments of ^1H and ^{13}C NMR spectral data for ondansetron and its two novel metabolites, 1-hydroxy-ondansetron diastereoisomers. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 44, p. 972-975, 2006.

ELAD, Y.; MALATHRAKIS, N. E.; DIK, A. J. Biological control of *Botrytis*-incited diseases and powdery mildews in greenhouse crops. **Crop Protection**, v. 15, n. 3, p. 229 - 240, 1996.

EL HAGE, S.; ANE, M.; STIGLIANI, J.; MARJORIE, M.; VIAL, H.; BAZIARD-MOUYSSET, G.; PAYARD, M. Synthesis and antimalarial activity of new atovaquona derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 11, p. 4778 – 4782, 2009.

EYONG, K. O.; KUMAR, S. P.; KUETE, V.; FOLEFOG, G. N.; LANGMI, H.; MEYER, M. J. J.; LALL, N.; BASKARAN, S. Cobalt mediated ring contraction reaction of lapachol and initial antibacterial evaluation of naphthoquinones derived from lapachol. **Medicinal Chemistry Research**, v. 21, n. 8, p. 2117 - 2122, 2012.

EYONG, K. O.; EYONG, C. A.; SIDJUI, L. S.; YIMDJIO, M. C.; NWEMBE, S. N.; LAMSHÖFT, M.; FOLEFOG, G. N.; SPITELLER, M.; NASTASA, V. Neurological activities of lapachol and its furano derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 6, p. 2902 - 2911, 2013a.

EYONG, K. O.; PUPPALA, M.; KUMAR, P. S.; LAMSHÖFT, M.; FOLEFOG, G. N.; SPITELLER, M.; BASKARAN, S. A mechanistic study on the Hooker oxidation:

synthesis of novel indane carboxylic acid derivatives from lapachol. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 11, n. 3, p. 459 - 468, 2013b.

FABBRI, A.; TRAVAGLIONE, S.; BALLAN, G.; LOIZZO, S.; FIORENTINI, C. The cytotoxic necrotizing factor 1 from *E. coli*: a janus toxin playing with cancer regulators. **Toxins**, v. 5, p. 1462 -1 474, 2013.

FABER, K. **Biotransformations in organic chemistry**. Berlin, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p. 402, 1997.

FAIGLE, J. W. Drug Metabolism in the Colon Wall and Lumen. In: BIECK, P. R., ed. Colonic drug absorption and metabolism, **Drugs and the Pharmaceutical Sciences**, v. 60, p. 29 - 54, 1993.

FAO/WHO. (2002). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria

FIESER, L. F.; HARTWELL, J. L.; SELIGMAN, A. M. Concerning the mechanism of the Hooker Oxidation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 58, p. 1223-1228, 1936.

FIESER, L. F.; FIESER, M. Naphthoquinone Antimalarials. XII. The Hooker Oxidation Reaction. **Journal of the American Chemical Society**, v. 70, n. 10, p. 3215-3222, 1948.

FONSECA, S. G. C.; DA SILVA, L. B. L.; CASTRO, R. F.; DE SANTANA, D. P. Validação de metodologia analítica para doseamento de soluções de lapachol por CLAE. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 157-159, 2004.

FOSSE, C.; LE TEXIER, L.; ROY, S.; DELAFORGE, M.; GRÉGOIRE, S.; NEUWELS, M.; AZERAD, R. Parameters and mechanistic studies on the oxidative ring cleavage of synthetic heterocyclic naphthoquinones by *Streptomyces* strains. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, p. 446–456, 2004.

FURA, A. **Drug Discovery Today**, v. 11, nos. 3/4, p. 133-141, 2006.

GARCÍA-GRANADOS, A.; FERNÁNDEZ, A.; GUTIÉRREZ, M. C.; MARTÍNEZ, A.; QUIRÓZ, R.; RIVAS, F.; ARIAS, J. M. Biotransformation of ent-13-epi-manoyl oxides difunctionalized at C-3 and C-12 by filamentous fungi. **Phytochemistry**, v. 65, p.107–115, 2004.

GARKAVTSEV, I., CHAUHAN, V.P., WONG, H.K., MUKHOPADHYAY, A., GLICKSMAN, M.A., PETERSON, R.T., JAIN, R.K. Dehydro- α -lapachone, a plant product with antivasular activity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, p. 11596-11601, 2011.

GHOUMARI, H.; BENAJIBA, M.; GARCÍA-GRANADOS, A.; FERNÁNDEZ, A.; MARTÍNEZ, A.; RIVAS, F.; ARIAS, J.M. Biotransformations of ent-18-acetoxy-6-

ketomanoyl oxides epimers at C-13 with filamentous fungi. **Phytochemistry**, v. 67, n. 20, p. 2294 - 2302, 2006.

GODERSKA, K.; NOWAK, J.; CZARNECKI, Z. Comparison of the growth of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* species in media supplemented with selected saccharides including prebiotics. **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**, v.7, n. 2, p. 5 – 20, 2008.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. *Bifidobacterium* subsp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 139 - 157, 1999.

GOULART, M. O. F.; LIMA, N. M. F.; SANT'ANA, A. E. G.; FERRAZ, P. A. L.; CAVALCANTI, J. C. M.; FALKOWSKI, P.; OSSOWSKI, T.; LIWO, A. Electrochemical studies of isolapachol with emphasis on oxygen interaction with its radical anions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 566, n. 1, p. 25 - 29, 2004.

GUAN, S.; HE, J.; YOUNG, J. C.; ZHU, H.; LI, X. Z.; JI, C.; ZHOU, T. Transformation of trichothecene mycotoxins by microorganisms from fish digesta. **Aquaculture**, v. 290, n. 3 – 4, p. 290 – 295, 2009.

HAEBERLIN, B.; FRIEND, D. R. Anatomy and physiology of the gastrointestinal tract: implications for colonic drug delivery. In: FRIEND, D. R. ed. **Oral colon-specific drug delivery**, p. 1- 43, 1992.

HAHN, V.; SÜNWOLDT, K.; MIKOLASCH, A.; SCHAUER, F. Two different primary oxidation mechanisms during biotransformation of thymol by gram-positive bacteria of the genera *Nocardia* and *Mycobacterium*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 1289 – 1297, 2013.

HAN, L.; HUANG, X.; DAHSE, H. M.; MOELLMANN, U.; FU, H.; GRABLEY, S.; SATTLER, I.; LIN, W. Unusual Naphthoquinone Derivatives from the Twigs of *Avicennia marina*. **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 923 – 927, 2007.

HANSON, J.R. An introduction to biotransformations in organic chemistry. Oxford, W. H. Freeman Spektrum, p. 92, 1995.

HILÁRIO, V. C.; CARRÃO, D. B.; BARTH, T.; BORGES, K. B.; FURTADO, N. A. J. C.; PUPO, M. T.; DE OLIVEIRA, A. R. M. Assessment of the stereoselective fungal biotransformation of albendazole and its analysis by HPLC in polar organic mode. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 61, p. 100-107, 2012.

HOLLMANN, M.; RAZZAZI-FAZELI, E.; GRAJEWSKI, J.; TWARUZEK, M.; SULYOK, M.; BÖHM, J. Detection of 3-nitropropionic acid and cytotoxicity in *M. circinelloides*. **Mycotoxin Research**, v. 24, n. 3, p. 140 – 150, 2008.

HUISMAN, G. W.; GRAY, D. Towards novel processes for the finechemical and pharmaceutical industries. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 352 – 358, 2002.

HUSSAIN, H.; KROHN, K.; AHMAD, V. U.; MIANA, G. A.; GREEND, I. R. Lapachol: an overview. **Arkivoc**, v. 2, p. 145 – 171, 2007.

ILETT, K. F.; TEE, L. B. G.; REEVES, P. T.; MINCHIN, R. F. Metabolism of drugs and other xenobiotics in the gut lumen and wall. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 46, n. 1, p. 67-93, 1990.

ITO, C.; KATSUNO, S.; KONDO, Y.; TAN, H. T. W.; FURUKAWA, H. Chemical Constituents of *Avicennia alba*. Isolation and Structural Elucidation of New Naphthoquinones and Their Analogues, **Chemical and Pharmaceutical Bulletin** v. 48, n. 3, p. 339 – 343, 2000.

ITOIGAWAA, M.; ITO, C.; TAN, H. T. W.; OKUDAD, M.; TOKUDAD, H.; NISHINOD, H.; FURUKAWA, H. Cancer chemopreventive activity of naphthoquinones and their analogs from *Avicennia* plants. **Cancer Letters**, v. 174, p. 135 – 139, 2001.

JACKSON, M.; KARWOSWSKI, J. P.; HUMPHREY, P. E.; KOHL, W. L.; BARLOW, G.J.; TANAKA, S. K. Calbistrins, novel antifungal agents produced by *Penicillium restrictum*. **The journal of Antibiotics**, v. 46, n. 1, p. 34-38, 1993.

JARVIS, W.R. Pathology. In: **Botryotinia and Botrytis Species: Taxonomy, Physiology, and Pathogenicity**. Canada Department of Agriculture, (Monografia), Ottawa, n. 15, p.62, 1977.

JESUS L. I.; ALBUQUERQUE, N. C. P.; BORGES, K. B.; SIMÕES, R. A.; CALIXTO, L. A.; FURTADO, N. A. J. C.; GAITANI, C. M.; PUPO, M. T.; DE OLIVEIRA, A. R. M. Enantioselective fungal biotransformation of risperidone in liquid culture medium by capillary electrophoresis and hollow fiber liquid-phase microextraction. **Electrophoresis**, v. 32, p. 2765-2775, 2011.

KANDIOLLER, W.; BALSANO, E.; MEIER, S. M.; JUNGWIRTH, U.; GÖSCHL, S.; ROLLER, A.; JAKUPEC, M. A.; BERGER, W.; KEPPLERAB, B. K.; HARTINGER, C. G. Organometallic anticancer complexes of lapachol: metal centre-dependent formation of reactive oxygen species and correlation with cytotoxicity. **Chemical Communications**, v. 49, n. 32, p. 3348 - 3350, 2013.

KAPADIA, G. J.; AZUINE, M. A.; BALASUBRAMANIAN, V.; SRIDHAR, R. Aminonaphthoquinones - a novel class of compounds with potent antimalarial activity against *Plasmodium falciparum*. **Pharmacological Research**, v. 43, n. 4, p. 363 – 366, 2001.

KELLY, S. L.; KELLY, D. E. Microbial cytochromes P450: biodiversity and biotechnology. Where do cytochromes P450 come from, what do they do and what can they do for us? **Philosophical Transactions of the Royal Society, B: Biological Sciences**, v. 368, p. 1612, 2013.

KESSL, J. J.; MOSKALEV, N. V.; GRIBBLE, G. W.; NASR, M.; MESHNICK, S. R.; TRUMPOWER, B. L. Parameters determining the relative efficacy of hydroxy-

naphthoquinone inhibitors of the cytochrome bc1 complex. **Biochimica et Biophysica Acta, Bioenergetics**, v. 1767, n. 4, p. 319 – 326, 2007.

KHATTAB, A. A.; ABD-EL SALAM, I. S. Construction of new mutants of *M. racemosus* to improve progesterone biotransformation. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 6, p. 356-363, 2012.

KOVACIC, P.; SOMANATHAN, R. Recent developments in the mechanism of anticancer agents based on electron transfer, reactive oxygen species and oxidative stress. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 7, p. 658 - 668, 2011.

KOYAMA, J.; MORITA, I.; TAGAHARA, K.; OSAKAI, T.; HOTTA, H.; YANG, M. X.; MUKAINAKA, T.; NISHINO, H.; TOKUDA, H. Correlation with redox potentials and inhibitory effects on Epstein–Barr virus activation of azaanthraquinones. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 49, n. 9, p. 1214 – 1216, 2001.

KUMAR, R. S.; ROYMON, M. G.; IPE, A. J. Isolation, biochemical and molecular characterization of strains of coliforms from the water sample collected from Shivnath River. **Recent Research in Science and Technology**, v. 5, n. 2, p. 57 – 63, 2013.

KUTRZEBA, L. M.; KARAMYAN, V. T.; SPETH, R. C.; WILLIAMSON, J. S.; ZJAWIONY, J. K. *In vitro* studies on metabolism of salvinorin A. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, n. 11, p. 1078 -1084, 2009.

LANDA, P.; KUTIL, Z.; TEMML, V.; MALIK, J.; KOKOSKA, L.; WIDOWITZ, U.; PRIBYLOVA, M.; DVORAKOVA, M.; MARSIK, P.; SCHUSTER, D.; BAUER, R.; VANEK, T. Inhibition of *in vitro* leukotriene B4 biosynthesis in human neutrophil granulocytes and docking studies of natural quinines. **Natural Product Communications**, v. 8, n. 1, p. 105 - 108, 2013.

LEE, Y. R.; LEE, W. K. Efficient Synthesis of Biologically Interesting Dehydro- α -lapachone and α -Lapachone. **Synthetic Communications**, v. 34, n. 24, p. 4537 – 4543, 2004.

LEE, K.; TURNBULL, P.; MOORE, H. W. Concerning the Mechanism of the Hooker Oxidation. **Journal of Organic Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 461 – 464, 1995.

LEMOS, T. L. G.; MONTE, F. J. Q.; SANTOS, A. K. L.; FONSECA, A. M.; SANTOS, H. S.; OLIVEIRA, M. F.; COSTA, S. M. O.; PESSOA, O. D. L.; BRAZ-FILHO, R. Quinones from plants of northeastern Brazil: structural diversity, chemical transformations, NMR data and biological activities. **Natural Product Research**, v. 21, n. 6, p. 529 – 550, 2007.

LERESCHE, J.E.; MEYER, H.P. Chemocatalysis and Biocatalysis (Biotransformation): Some Thoughts of a Chemist and of a Biotechnologist. **Organic Process Research & Development**, v. 10, p. 572 - 580, 2006.

LIMA, N. M. F.; CORREIA, C. S.; LEON, L. L.; MACHADO, G. M.; MADEIRA, M. F.; SANT'ANA, A. E. G.; GOULART, M. O. F. Antileishmanial activity of lapachol

and analogues against *Leishmania braziliensis* and *Leishmania amazonensis*. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 7, p. 757-761, 2004.

LIMA, N. M. F.; DOS SANTOS, A. F.; PORFÍRIO, Z.; GOULART, M. O. F.; SANT'ANA, A. E. G. Toxicity of lapachol and isolapachol and their potassium salts against *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* cercariae, *Artemia salina* and *Tilapia nilótica*. **Acta Tropica**, v. 83 p. 43 – 47, 2002.

LISOWSKA, K.; SZEMRAJ, J.; ROZALSKA, S.; DLUGONSKI, J. The expression of cytochrome P-450 and cytochrome P-450 reductase genes in the simultaneous transformation of corticosteroids and phenanthrene by *Cunninghamella elegans*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 261, n. 2, p. 175 – 180, 2006.

LÜBBEHÜSEN, T. L.; NIELSEN, J.; MCINTYRE, M. Morphology and physiology of the dimorphic fungus *Mucor circinelloides* (syn. *M. racemosus*) during anaerobic growth. **Mycological Research**, v. 107, n. 2, p. 223 – 230, 2003.

MA, X. C.; WU, L. J.; GUO, D. A. Microbial transformation of dehydrocostuslactone by *Mucor polymorphosporus*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 8, n. 8, p. 713 – 718, 2006.

MA, L.; LIU, X.; LIANG, J.; ZHANG, Z. Biotransformations of cinnamaldehyde, cinnamic acid and acetophenone with *Mucor*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 27, n. 9, p. 2133 – 2137, 2011.

MAEDA, M.; MURAKAMI, M.; TAKEGAMI, T.; OTA, T. Promotion or suppression of experimental metastasis of B16 melanoma cells after oral administration of lapachol. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 229, n. 2, p. 232 – 238, 2008.

MARSHALL, V. P.; MCGOVREN, J. P.; RICHARD, F. A.; RICHARD, R. E.; WILEY, P. F. Microbial metabolism of anthracycline antibiotics daunomycin and adriamycin. **The Journal of Antibiotics**, v. 31, p. 336-342, 1978.

MARTINEZ, M. J. A.; BENITO, P. B. Biological activity of quinones. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 30, p. 303-366, 2005.

MECA, G.; RITIENI, A.; MAÑES, J. Reduction in vitro of the minor *Fusarium* mycotoxin *beauvericin* employing different strains of probiotic bacteria. **Food Control**, v. 28, n. 2, p. 435 – 440, 2012.

MESELHY, M. R.; KADOTA, S.; TSUBONO, K.; HATTORI, M.; NAMBA, T. Biotransformation of Shikonin by Human Intestinal Bacteria. **Tetrahedron**, v. 50, n. 10, p. 3081-3098, 1994.

MOIR, M., THOMSON, R.H. Naphthaquinones in *Lomatia* species. **Phytochemistry**, v. 12, p. 1351-1353, 1973.

NASIRI, H. R.; BOLTE, M.; SCHWALBE, H. Electrochemical and crystal structural analysis of alpha- and dehydro-alpha-lapachones. **Natural Product Research**, v. 22, n. 14, p. 1225 - 1230, 2008.

NETTO-FERREIRA, J. C.; LHIAUBET-VALLET, V.; DA SILVA, A. R.; DA SILVA, A. M.; FERREIRA, A. B. B.; MIRANDA, M. A. The photochemical reactivity of triplet β -lapachone-3-sulfonic acid towards biological substrates. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 6, p. 966 - 972, 2010.

NIEHUES, M.; BARROS, V. P.; EMERY, F. S.; DIAS-BARUFFI, M.; ASSIS, M. D.; LOPES, N. P. Biomimetic in vitro oxidation of lapachol: A model to predict and analyse the *in vivo* phase I metabolism of bioactive compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 804 – 812, 2012.

NIXON, G. L.; MOSS, D. M.; SHONE, A. E.; LALLOO, D. G.; FISHER, N.; O'NEILL, P. M.; WARD, S. A.; BIAGINI, G. A. Antimalarial pharmacology and therapeutics of atovaquona. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 5, p. 977 – 985, 2013.

OLIVEIRA, M. F.; LEMOS, T. L. G.; DE MATTOS, M. C.; SEGUNDO, T. A.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R. New enamine derivatives of lapachol and biological activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 74, n. 2, p. 211-221, 2002.

OSSOWSKI, T.; GOULART, M. O. F.; ABREU, F. C.; SANT'ANA, A. E. G.; MIRANDA, P. R. B.; COSTA, C. O.; LIWO, A.; FALKOWSKI, P.; ZARZECZANSKA, B. Determination of the pKa values of some biologically active and inactive hydroxyquinones. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 1, p. 175 – 183, 2008.

OTTEN, S. L.; ROSAZZA, J. P. Microbial transformations of natural antitumor agents. 17. Conversions of lapachol by *Cunninghamella echinulata*. **Journal of Natural Products**, v. 44, n. 5, p. 562-568, 1981

PARRILHA, G. L.; VIEIRA, R. P.; CAMPOS, P. P.; SILVA, G. D. F.; DUARTE, L. P.; ANDRADE, S. P.; BERALDO, H. Coordination of lapachol to bismuth(III) improves its anti-inflammatory and anti-angiogenic activities. **BioMetals**, v. 25, n. 1, p. 55 - 62, 2012.

PATEL, R.N. Microbial/enzymatic synthesis of chiral intermediates for pharmaceuticals. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, p. 804–826, 2002.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. Editora Cengage Learning, 4ed, 2010.

PEL, H.J.; WINDE, J.H., ARCHER, D.B., *et al.* Genome sequencing and analysis of the versatile cell factory *Aspergillus niger* CBS 513.88. **Nature Biotechnology**, v. 25, p. 221-231, 2007.

PERVAIZ, S. A.; MADNI, M. A.; AHMAD, H.; KHALIQ, F. H. Microbial biotransformation: a tool for drug designing. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 49, n. 5, p. 437-450, 2013.

POLAINO, S.; GONZALEZ-DELGADO, J.A.; ARTEAGA, P.; HERRADOR, M.M.; BARRERO, A. F.; CERDA-OLMEDO, E. Apocarotenoids in the sexual interaction of *Phycomyces blakesleeanus*. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 10, p. 3002 - 3009, 2012.

QI-HE, C., JING, L.; HAI-FENG, Z.; GUO-QING, H.; MING-LIANG, F. The betulinic acid production from betulin through biotransformation by fungi. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 45, n. 3, p. 175 - 180, 2009.

RAIMONDI, S.; RONCAGLIA, L.; LUCIA, M. AMARETTI, A.; LEONARDI, A.; PAGNONI, U. M.; ROSSI, M. Bioconversion of soy isoflavones daidzin and daidzein by *Bifidobacterium* strains. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 81, p. 943 - 950, 2009.

RAO, K. T. Quinone natural products. Streptonigrin (NSC-4583) and lapachol (NSC-11905) structure-activity relations. **Cancer Chemotherapy Reports, Part 2**, v. 4, n. 4, p. 11 - 17, 1974.

RIBEIRO, C.M.R.; SOUZA, P.P.; FERREIRA, L.L.D.M; PINTO, L.A.; ALMEIDA, L.S.; JESUS, J.G. Ciclização do lapachol induzida por sais de tálio III. **Química Nova**, v. 31, n. 4, p.759-762, 2008.

ROBINSON, T.; SINGH, D.; NIGAM, P. Solid-state fermentation: a promising microbial technology for secondary metabolite production. **Microbiol Biotechnology**, v. 55, p. 284 - 289, 2001.

ROLAN, P. E.; MERCER, A. J.; TATE, E.; BENJAMIN, I.; POSNER, J. Disposition of Atovaquona in Humans. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 6, p. 1319 - 1321, 1997.

RUIZ-HERRERA, J. (1993) Dimorphism in *Mucor* species. In: HV Bossche, FC Odds & D Kerridge (eds) *Dimorphic fungi in biology and medicine* (pp 257-265). Springer, United States.

SALAS, C.; TAPIA, R. A.; CIUDAD, K.; ARMSTRONG, V.; ORELLANA, M.; KEMMERLING, U.; FERREIRA, J.; MAYDA, J. D.; MORELLO, A. *Trypanosoma cruzi*: activities of lapachol and alpha- and beta-lapachone derivatives against epimastigote and trypomastigote forms. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 2, p. 668 - 674, 2008.

SALUSTIANO, E. J.; NETTO, C. D.; FERNANDES, R. F.; DA SILVA, A. J.; BACELAR, T. S.; CASTRO, C. P.; BUARQUE, C. D.; MAIA, R. C.; RUMJANEK, V. M.; COSTA, P. R. Comparison of the cytotoxic effect of lapachol, α -lapachone and pentacyclic 1,4-naphthoquinones on human leukemic cells. **New Drugs**, v. 28, n. 2, p. 139 - 144, 2009.

- SASAKI, J.; MIZOUE, K.; MORIMOTO, S.; ADACHI, T.; OMURA, S. Microbial transformation of 6-o-methylerythromycin derivatives. **The Journal of Antibiotics**, v. 41, p. 908-915, 1988.
- SEVERIANO, M. E.; SIMÃO, M. R.; RAMOS, H. P.; PARREIRA, R. L. T.; ARAKAWA, N. S.; SAID, S.; FURTADO, N. A. J. C.; DE OLIVEIRA, D. C. R.; GREGÓRIO, L. E.; TIRAPELLI, C. R.; VENEZIANI, R. C. S.; AMBRÓSIO, S. R. Biotransformation of ent-pimaradienoic acid by cell cultures of *Aspergillus niger*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 5870-5875, 2013.
- SILVA, E. O.; FURTADO, N. A. J. C.; ALEU, J.; COLLADO, I. G. Terpenoid biotransformations by *Mucor* species. **Phytochemistry reviews**, v. 12, p. 857-876, 2013.
- SILVA, T. M.; CAMARA, C. A.; BARBOSA, T. P.; SOARES, A. Z.; DA CUNHA, L. C.; PINTO, A. C.; VARGAS, M. D. Molluscicidal activity of synthetic lapachol amino and hydrogentaed derivatives. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 13, n. 1, p. 193 – 196, 2005.
- SINGER, A. C.; CROWLEY, D. E.; THOMPSON, I. P. Secondary plant metabolites in phytoremediation and biotransformation. **Trends in Biotechnology**, v. 21, p. 123 - 129, 2003.
- SMITH, R. V.; ROSAZZA, J. P. Microbial models of mammalian metabolism. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 161, n. 2, p. 551-558, 1974.
- SOUSA, T.; PATERSON, R.; MOORE, V.; CARLSSON, A.; ABRAHAMSSON, B.; BASIT, A. The gastrointestinal microbiota as a site for the biotransformation of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, V. 363, n. 1 – 2, p. 1 – 25, 2008.
- SRISILAM, K.; VEERESHAM, C. Biotransformation of drugs by microbial cultures for predicting mammalian drug metabolism. **Biotechnology Advances**, v. 21, p. 3–39, 2003.
- STAATS, M.; VAN BAARLEN, P.; VAN KAN, J. A. L. Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. **Molecular Biology and Evolution**, v. 22, n. 2, p. 333 - 346, 2005.
- STEINERT, J.; KHALAF, H.; RIMPLER, M. HPLC separation and determination of naphtho[2,3-b]furan-4,9-diones and related compounds in extracts of *Tabebuia avellanedae* (Bignoniaceae). **Journal of Chromatography A**, v. 693, p. 281 – 287, 1995.
- SUBRAMANIAN, S.; FERREIRA, M. M. C.; TRSIC, M. A. Structure-Activity Relationship Study of Lapachol and Some Derivatives of 1,4-Naphthoquinones Against Carcinoma Walker 256. **Structural Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 47 – 57, 1998.
- SUNASSEE, S. N.; VEALE, C. G. L.; SHUNMOOGAM-GOUNDEN, N.; OSONIYI, O.; HENDRICKS, D. T.; CAIRA, M. R.; DE LA MARE, J.; EDKINS, A. L.; PINTO, A. V.; DA SILVA JÚNIOR, E. N.; DAVIES-COLEMAN, M. T. Cytotoxicity of

lapachol, β -lapachone and related synthetic 1,4-naphthoquinones against oesophageal cancer cells. **European journal of medicinal chemistry**, v. 62, p. 98 – 110, 2013.

THEODULOZ, C.; CARRIÓN, I. B.; PERTINO, M. W.; VALENZUELA, D.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Potential Gastroprotective effect of novel cyperenoic acid/quinone derivatives in human cell cultures. **Planta Medica**, v. 78, n. 17, p. 1807 – 1812, 2012.

TONHOLO, J.; FREITAS, L. R.; ABREU, F. C.; AZEVEDO, D. C.; ZANI, C. L.; OLIVEIRA, A. B.; GOULART, M. O. F. Electrochemical properties of biologically active heterocyclic naphthoquinones. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 9, n. 2, p. 163 – 169, 1998.

VAN DER MOOTER, G.; KINGET, R. Oral-colon-specific drug delivery: a review, **Drug delivery**, v. 2, p. 81 - 93, 1995.

VANHAECKE, L.; VERCRUYSSSE, F.; BOON, N.; VERSTRAETE, W.; CLEENWERCK, I.; DE WACHTER, M.; DE VOS, P.; VAN DE WIELE, T. Isolation and characterization of human intestinal bacteria capable of transforming the dietary carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 5, p. 1469 - 1477, 2008.

VENISETTY, R. K.; CIDDI, V. Application of microbial biotransformation for the new drug discovery using natural drugs as substrates. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 4, n. 153-167, 2003.

VESSECCHI, R.; EMERY, F. S.; GALEMBECKC, S. E.; LOPES, N. P. Gas-phase reactivity of 2-hydroxy-1,4-naphthoquinones: a computational and mass spectrometry study of lapachol congeners. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 47, p. 1648 – 1659, 2012.

WANG, M.; LITING, Z.; YANBING, S.; YINHU, M.; YU, Z.; JIANMEI, L. Effects of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on steroids 1-en-dehydrogenation biotransformation by *Arthrobacter simplex* TCCC 11037. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 59, p. 58 – 63, 2009.

YANG, L.; CHU, J. S.; FIX, J. A. Colon-specific drug delivery: new approaches and *in vitro/in vivo* evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 235, n. 1 - 2, p. 1 - 15, 2002.

YOUNG, J. C.; ZHOU, T.; YU, H.; ZHU, H.; GONG, J. Degradation of trichothecene mycotoxins by chicken intestinal microbes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 1, p. 136 – 143, 2007.

ZHAN, J.; GUO, H.; DAI, J.; ZHANG, Y.; GUO, D. Biotransformation of gastrodin by *Mucor spinosus*. **Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences**, v. 10, p.187-189, 2001.

ZHOU, J.; DUAN, L.; CHEN, H.; REN, X.I; ZHANG, Z.; ZHOU, F.; LIU, J.; PEI, D.; DING, K. Atovaquona derivatives as potent cytotoxic and apoptosis inducing agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 17, p. 5091 – 5094, 2009.