

## Produção de moléculas bioativas por fermentação em estado sólido utilizando novos actinomicetos e caracterização parcial dos principais compostos

Juliana Gonçalves Taniguchi, Haroldo Yukio Kawaguti, Wesley Ferreira da Silva, Juliana Wagner Simon, Clarissa Hamaio Okino-Delgado, Luciana Francisco Fleuri\*<sup>1</sup>

1. Departamento de Química e Bioquímica, LBp - Laboratório de Bioprocessos, Instituto de Biociências (IB), UNESP - Universidade Estadual Paulista, Botucatu

Distrito de Rubião Jr., s/nº, CEP: 18618-000 Botucatu-SP, Brasil

Autor correspondente: luciana@ibb.unesp.br

**Resumo**— O estudo englobou o rastreamento de actinomicetos em diferentes amostras, estudo do meio de melhor conservação das bactérias, fermentação em resíduos sólidos umedecidos e concomitante produção de antioxidantes, antibacterianos e antifúngicos. A caracterização das moléculas de maior potencial antioxidante foi também estudada por fracionamento com sal. A partir de 320 amostras foram isolados 30 actinomicetos. O meio de conservação mais adequado foi o Potato Dextrose Agar acrescido de 1% de amido. Vinte e dois actinomicetos foram capazes de crescer em farinha de feijão branco umedecido e seus extratos apresentaram atividades antioxidante, antibacteriana e antifúngica. Foi evidenciado o caráter proteico das frações dos extratos dos actinomicetos que apresentaram maior atividade antioxidante.

### Introdução

Os actinomicetos são definidos como um táxon na subdivisão das bactérias gram-positivas, que apresentam um grande conteúdo de guanina e citosina em seus ácidos desoxirribonucleicos (DNA), e a capacidade de formar hifas em algum estágio de seu desenvolvimento <sup>[1]</sup>. Esses microorganismos estão presentes em uma ampla variedade de ambientes naturais como solo, atmosfera, rios, lagos, ambientes marinhos e em habitats com características ecológicas específicas como depósitos de lixo, água residuárias, regiões vulcânicas, lagos salinos, fontes termais, dentre outros <sup>[2]</sup>.

A grande maioria dos metabólitos têm sido isolados de actinomicetos, sendo o restante de fungos (20%), *Bacillus* (7%) e *Pseudomonas* (1-2%) <sup>[3]</sup>. Os actinomicetos são responsáveis pela produção de quase metade dos metabólitos secundários descobertos <sup>[4]</sup>, notadamente antibióticos <sup>[5]</sup>, agentes antitumorais <sup>[6]</sup>, agentes imunossuppressores, antioxidantes <sup>[7]</sup> e enzimas <sup>[8, 9]</sup>. Estima-se que aproximadamente 10.000 de 23.000 antibióticos descobertos tenham sido isolados a partir de actinomicetos <sup>[10]</sup>. Dependendo da natureza química, essas substâncias bioativas podem ser classificadas em peptídeos, quinonas, macrolídeos, terpenos, policetídeos, dentre outros.

Várias estratégias têm sido propostas para a procura de microorganismos novos, entre elas a utilização de meios de cultura alternativos, maiores períodos de incubação, diferentes temperaturas de incubação, pré-aquecimento do solo e adição de compostos antibacterianos específicos <sup>[11]</sup>. Um dos mais eficientes modos de descobrir novas moléculas bioativas como antibióticos e antioxidantes é através do isolamento de novos actinomicetos que produzem cerca de 70% de todos os compostos funcionais conhecidos <sup>[12]</sup>. Dessa forma, a investigação de novos ecossistemas e novas técnicas de isolamento é crucial para a

obtenção de novas cepas e, consequentemente, de novos produtos microbianos <sup>[13]</sup>.

A presente proposta visou isolar actinomicetos, determinar o melhor meio de conservação, bem como a produção de compostos bioativos antioxidantes e antimicrobianos por fermentação em estado sólido e caracterização dos extratos com maior potencial antioxidante.

### Parte Experimental

#### Isolamento de Microorganismos

O isolamento foi conduzido a partir de amostras de solo. Essas amostras foram submetidas à secagem a 30°C por uma semana em estufa e, posteriormente, resfriadas a temperatura ambiente. Cerca de 1 g de cada amostra de solo foi tratada com 0,1 g de CaCO<sub>3</sub> e incubada em temperatura ambiente por 1 semana <sup>[14, 15]</sup>. As amostras de 1 g contendo CaCO<sub>3</sub> foram transferidas para frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL de água destilada estéril e submetidos a uma agitação de 200 rpm, a 25°C, por 30 minutos, sendo seu conteúdo denominado de cultura estoque. A partir da cultura estoque foram realizadas diluições seriadas. Uma suspensão de 1 mL foi transferida assepticamente para tubo de ensaio contendo 9 mL de água destilada estéril e homogeneizada (10<sup>-1</sup>). Na sequência foram realizadas diluições até 10<sup>-5</sup>. A suspensão (100 µL) de cada tubo foi inoculada em diferentes meios de cultivo em placas de petri. Foram utilizados três meios de cultura, a saber:

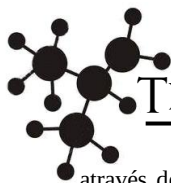
- Meio Ágar Amido-Caseína composto de amido solúvel 10 g/L; caseína hidrolisada (livre de vitaminas) 0,3 g/L; KNO<sub>3</sub> 2,0 g/L; NaCl 2,0 g/L; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2,0 g/L; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,05 g/L; CaCO<sub>3</sub> 0,02 g/L; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,01 g/L, ágar 18,0 g/L; em pH 7,0;
- Meio Bennett composto de extrato de levedura 1 g/L, extrato de carne 1 g/L, ácido casamino 2 g/L, glicose 10 g/L, e ágar 15 g/L, em pH 7,3;
- Meio Potato Dextrose Agar (PDA) suplementado com 1% de amido.

As placas foram incubadas a 30°C por 15 dias e periodicamente observadas durante a incubação. As colônias isoladas e com características de actinomicetos foram selecionadas, repicadas e mantidas a 5°C, sob camada de vaselina esterelizada.

#### Seleção de actinomicetos com atividade antioxidante e antimicrobiana

##### - Obtenção de extratos microbianos

Para a seleção de actinomicetos com atividade antioxidante inicialmente foi estudado a obtenção de extratos microbianos



através de Fermentação em Estado Sólido (FES) utilizando dois meios de cultivo: farelo de trigo umedecido com água (80% de umidade) e farinha de feijão branco umedecido com solução salina composta por  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{NaCl}$ ;  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{MnSO}_4$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{FeSO}_4$  [16].

Os frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 10g do meio de cultura foram esterilizados por 15 minutos à temperatura de 121°C, a 1atm de pressão, e posteriormente inoculados com 1mL de suspensão do microorganismo, preparada com água destilada esterilizada e com cultura de actinomiceto de 15 dias de crescimento em meio PDA suplementado de 1% de amido.

Os frascos foram incubados a 37°C por 15 dias. Após a incubação foram adicionados 50 mL de água destilada em cada frasco. Os meios de cultura foram homogeneizados com bastão de vidro e após permanecerem em repouso por 1 hora com agitação ocasional, foram filtrados em gaze. O filtrado foi considerado o extrato microbiano e utilizado na determinação da atividade antioxidante e antimicrobiana.

## - Determinação da atividade antioxidante

A medida da atividade sequestrante de radicais DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) nos extratos microbianos foi realizada de acordo com metodologia descrita por Zhu et al. (2002) [17] e Chen et al. (2003) [18]. Uma alíquota de 200 µL do extrato do actinomiceto foi homogeneizada com 3 mL de etanol P.A.

A solução foi deixada em repouso por 10 minutos, sendo 300 µL do sobrenadante utilizado para a atividade antioxidante. Foi adicionado aos 300 µL do sobrenadante, 2,0 mL da solução do radical DPPH (0,01g/50mL de etanol), sendo que a diminuição da absorbância foi medida a 517 nm após 30 minutos a temperatura ambiente.

A concentração de DPPH no meio reacional foi calculada com uma curva de calibração (trolox equivalente), determinada pela regressão linear ( $R^2 = 0,98$ ).

A atividade antirradical foi determinada em termos de porcentagem de inibição (PI), a qual foi calculada através da taxa de declínio da absorção da solução de DPPH, após o tempo de reação, com a absorção da solução controle, de acordo com a Equação 1:

Equação 1:  $PI (\% \text{ de inibição}) = [A(0) - A(t)/A(0)] \times 100$

Onde A (0) = Abs da solução referência de DPPH-etanol

A (t) = Abs da solução DPPH-produto

## - Determinação da atividade antibacteriana

Os extratos dos actinomicetos foram testados quanto à inibição de *Enterobacter aerogenes* e *Escherichia coli*. Uma alíquota de 100 µL dos extratos dos actinomicetos foi espalhada com auxílio de alça de Drigalski em placas contendo meio Ágar Hicoliforme Rápido (Himedia®) cromogênico e específico para *E. aerogenes* e *E. coli* e solução de 100 µL de bactérias. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C. Concomitantemente foi preparado um controle com adição da mesma solução padrão de bactérias e 100 µL de água destilada estéril ao invés do extrato. O experimento foi conduzido em duplicata e calculado em termos de porcentagem de inibição pela contagem direta das colônias bacterianas (*E. aerogenes* + *E. coli*) em placa.

## - Determinação da atividade antifúngica

A atividade antifúngica dos extratos foi avaliada pelo teste de confronto [14]. Uma suspensão de esporos do fungo *Aspergillus*

*niger* com 96h de crescimento foi preparada e adicionada em placa de petri contendo o meio PDA suplementado com amido, com auxílio de uma alça de drigalski. Simultaneamente foram colocados discos de papel de filtro de 0,3 cm de diâmetro nas placas e adicionados 20 µL dos extratos de cada actinomiceto. As placas foram incubadas por 4 dias para a verificação da atividade antifúngica. A atividade inibitória dos actinomicetos sobre o fungo foi determinada pela presença ou ausência de zonas de inibição.

## Caracterização parcial dos extratos com atividade antioxidante

Para caracterizar a classe de biomoléculas que apresentou atividade antioxidante, realizou-se a precipitação das proteínas (salting-out) dos extratos mais promissores utilizando-se sulfato de amônio nas porcentagens 40%, 60% e 80% de saturação, seguido da diálise das frações em água destilada a 5°C. A atividade antioxidante foi verificada nos diferentes extratos fracionados como descrito na determinação de atividade antioxidante.

## Resultados e Discussão

No total, trinta linhagens de actinomicetos foram isoladas das regiões de Botucatu (SP), Campinas (SP), São Paulo (SP), Votuporanga (SP) e Viçosa (MG), em 320 amostras coletadas, as quais foram identificadas numericamente de acordo com a ordem de coleta. As linhagens de actinomicetos estão sendo conservadas em meio PDA acrescido de 1% de amido, pois este meio apresentou ótimo padrão de crescimento e conservação dos microorganismos em detrimentos dos outros meios testados.

No processo de FES em meio contendo farelo de trigo umedecido com água, não se observou crescimento das linhagens isoladas. O contrário aconteceu quando foi utilizada a farinha de feijão branco umedecida com solução salina, havendo crescimento de 22 linhagens, todas das quais se obteve extratos microbianos para a realização dos testes de atividade biológica.

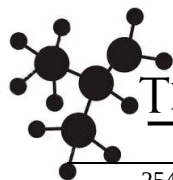
Para a realização da atividade antioxidante por sequestro de radicais livres de DPPH, foram testados os 22 extratos obtidos. A porcentagem de inibição (PI) de cada extrato está demonstrada na Tabela 1.

Os extratos de número 3, 130, 150, 198, 220, 247, 254 e 307 apresentaram um alto potencial como agente antioxidante, obtendo porcentagens de captação de radicais de DPPH superior a 50%, sendo o de número 220 (94,97%) o mais potente.

Reis et al. (2012) [19] estudou a atividade antioxidante de extrato metanólico do fungo *Agaricus bohusii* e obteve 51,5% de redução do DPPH. Zhang et al. (2010) [20] estudou a atividade antioxidante de hidrolisados proteicos (100 mg/L), sendo que a máxima atividade obtida foi de 29,3% de redução da coloração do DPPH. Li et al. (2006) [21] estudou a atividade antioxidante de um polissacarídeo purificado de *Lygodium japonicum* obtendo máxima redução de DPPH de 92,5%.

**Tabela 1.** Porcentagem de redução do DPPH dos extratos dos novos actinomicetos

| Linhagens | DPPH reduzido (%) | Linhagens | DPPH reduzido (%) |
|-----------|-------------------|-----------|-------------------|
| 220       | 94,97             | 5         | 37,47             |



|     |       |     |       |
|-----|-------|-----|-------|
| 254 | 69,74 | 305 | 29,32 |
| 3   | 65,26 | 225 | 25,35 |
| 247 | 63,73 | 12  | 24,59 |
| 307 | 61,72 | 23  | 18,99 |
| 198 | 57,47 | 222 | 18,38 |
| 130 | 53,74 | 238 | 15,33 |
| 150 | 50,61 | 22  | 10,40 |
| 304 | 47,27 | 7   | 0     |
| 300 | 47,22 | 196 | 0     |
| 287 | 43,33 | 316 | 0     |

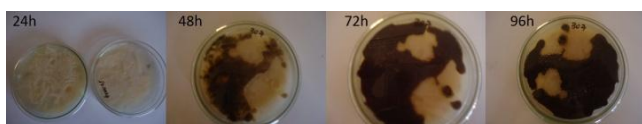
No presente estudo a linhagem 220 apresentou atividade antioxidante aproximadamente 43%, 65% e 2,5% superior às moléculas estudadas por, respectivamente, Reis et al. (2012) <sup>[19]</sup>, Zhang et al. (2010) <sup>[20]</sup> e Li et al. (2006) <sup>[21]</sup>.

Os extratos dos actinomicetos também apresentaram atividade antibacteriana sobre *Enterobacter aerogenes* + *Escherichia coli* (Tabela 2), sendo que os extratos 5, 23, 225 e 247 merecem destaque devido à inibição das bactérias na ordem, respectivamente, de 57,9%, 60%, 57,1% e 56,6%.

**Tabela 2.** Atividade antibacteriana sobre *E. aerogenes* + *E. coli* dos extratos dos novos actinomicetos.

| Linhagens | Atividade Antibacteriana (%) |
|-----------|------------------------------|
| 5         | 57,9                         |
| 23        | 60                           |
| 130       | 48,2                         |
| 150       | 47,9                         |
| 222       | 43,3                         |
| 225       | 57,1                         |
| 247       | 56,6                         |

Constatou-se inibição total de crescimento de *Aspergillus niger* em placas contendo os extratos dos actinomicetos 220 e 254, e inibição parcial nas placas contendo o extrato 307 (Figura 1). Neste caso houve a formação de zonas de inibição não uniformes, sem a formação de halos delineados. Os outros extratos não apresentaram inibição sobre o fungo estudado.



**Figura 1.** Atividade antifúngica do extrato do actinomiceto 307 sobre *Aspergillus niger*.

Dependendo da natureza química, essas substâncias bioativas podem ser classificadas em peptídeos, quinonas, macrolídeos, terpenos, policetídeos, dentre outros. Os peptídeos são aminoácidos de cadeia curta. A maioria dos peptídeos obtidos a partir de espécies de *Streptomyces* são cíclicos e contém na sua estrutura elementos como cromóforos. Os peptídeos incluem a ciclomarina A <sup>[23]</sup>, piperazimicinas A-C <sup>[22]</sup>, e salinamidas A e

B <sup>[24]</sup>. As quinonas são compostos que possuem conjugado cíclico diona na estrutura e são constituintes comuns e moléculas biologicamente relevantes.

Recentes exemplos são os complexos C-glicosídeos himalomicinas A e B e tetracenomicina D. O primeiro corresponde à antraquinonas com cromóforo fridamicina E, um precursor de antibióticos antraciclínicos, obtidos a partir de *Streptomyces* sp. 6921 que mostraram grande atividade antibacteriana <sup>[25]</sup>, enquanto o segundo, um antibiótico antraquinônico produzido por *Streptomyces corchorusii* AUBN <sup>[26]</sup> que mostrou atividade citotóxica frente a células HepG2 (carcinoma hepático).

Os terpenos são uma classe variada e grande de hidrocarbonetos. São biossinteticamente derivados a partir de unidades de isopreno, que possui a fórmula molécula C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>. *Streptomyces* sp. NPS008187 isolado do Alaska, sintetizou três novos pirrolo sesquiterpenos que mostraram atividade antibacteriana <sup>[27]</sup>. Os tetraterpenos mais conhecidos são os carotenóides, e que também podem ser isolados a partir de linhagens como *Streptomyces griseus* <sup>[28]</sup>.

A partir dessas premissas, fez-se a caracterização dos extratos mais promissores (220 e 254) quanto à atividade antioxidante, com intuito de se obter um indicativo da natureza desses compostos.

As frações contendo proteínas precipitadas com 40% de sulfato de amônio apresentaram atividade antioxidante de 53,78% (220) e 33,28% (254) (Tabela 3), valores elevados quando comparados com as outras frações.

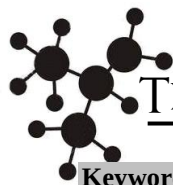
**Tabela 3.** Atividade antioxidante das frações dos extratos obtidos a partir dos novos actinomicetos.

| Linhagem (fração) | DPPH reduzido (%) | Linhagem (fração) | DPPH reduzido (%) |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 220 (40%)         | 53,78             | 254 (40%)         | 33,28             |
| 220 (60%)         | 8,63              | 254 (60%)         | 4,78              |
| 220 (80%)         | 10,42             | 254 (80%)         | 6,17              |

Os extratos brutos obtidos das mesmas linhagens e avaliados pelo mesmo método, apresentaram 94,97% e 69,74%, respectivamente, para as linhagens 220 e 254 (Tabela 1). Assim sendo, observa-se que o potencial antioxidante pode ser devido às diferentes peptídeos existentes nos extratos atuando de forma sinérgica quando se determina a atividade. Observa-se também perda de atividade quando somam-se as porcentagens de redução do DPPH das frações, o que provavelmente pode ser decorrente da desnaturação proteica quando se utiliza altas concentrações salinas e/ou à presença de outras biomoléculas que também podem apresentar atividade antioxidante.

## Conclusão

Novos actinomicetos foram isolados. O meio que permitiu melhor conservação é simples e barato. A maioria dos actinomicetos cresceram em farinha de feijão branco com solução salina utilizando fermentação em estado sólido e produziram compostos antioxidantes, antibacterianos e antifúngicos em diferentes graus. Grande parte da atividade antioxidante pode ser atribuída à peptídeos produzidos pelos actinomicetos.



**Keywords:** Antioxidante, bactericida, fungicida, actinomicetos, peptídeos.

- [1] YOSHIDA, A.; SEO, Y.; SUZUKI, S.; NISHINO, T.; KOBAYASHI, T.; HAMADA-SATO, N.; KOGURE, K.; IMADA, C. (2008) Actinomycetal community structures in seawater and freshwater examined by DGGE analysis of 16S rRNA gene fragments. *Mar. Biotechnol.*, 10:554–563.
- [2] GOODFELLOW, M.; WILLIAMS, S.T. (1983) Ecology of Actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.*, 37:189–216.
- [3] PRABAVATHY, V.R.; MATHIVANAN, N.; MURUGESAN, K. (2006) Control of blast and sheath blight diseases of rice using antifungal metabolites produced by *Streptomyces* sp. *PM5. Biol. Control.*, 39:313–319.
- [4] BERDY, J. (2005) Bioactive microbial metabolites. *J. Antibiot.*, 58:1–26.
- [5] STROHL, W.R. (2004) Antimicrobials. In: Bull AT (ed) *Microbial diversity and bioprospecting*. ASM Press, Washington, 336–355.
- [6] OLANO, C.; MENDEZ, C.; SALAS, J.A. (2009) Antitumour compounds from marine actinomycetes. *Mar. Drugs.*, 7:210–248.
- [7] MANN, J. (2001) Natural products as immunosuppressive agents. *Nat. Prod. Rep.*, 18:417–430.
- [8] PECZNSKA-CZOCZ, W.; MORDARSKI, M. (1988) ACTINOMYCETE ENZYMES. In: GOODFELLOW, M.; WILLIAMS, S.T.; MORDARSKI, M. (eds) *Actinomycetes in biotechnology*. Academic Press, London, 219–283.
- [9] OLDFIELD, C.; WOOD, N.T.; GILBERT, S.C.; MURRAY, F.D.; FAURE, F.R. (1998) Desulphurisation of benzothiophene and dibenzothiophene by actinomycete organisms belonging to the genus *Rhodococcus*, and related taxa. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 74:119–132.
- [10] OKAMI Y, HOTTA K (1988) Search and discovery of new antibiotics. In: Goodfellow M, Williams ST, Mordarski M (eds) *Actinomycetes in biotechnology*. Academic press, London, pp 33–67.
- [11] BULL, A.T. (2004) *Microbial diversity and bioprospecting*. ASM Press, Washington.
- [12] MIYADOH, S. (1993) Research on antibiotic screening in Japan over the last decade: a producing microorganisms approach. *Actinomycetol.*, 7:100–106.
- [13] HOZZEIN, W.N.; ALI, M.I.; RABIE, W. (2008) A new preferential medium for enumeration and isolation of desert actinomycetes. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 24:1547–1552
- [14] BASAVARAJ, K.N.; S CHANDRASHEKHARA, S.; SHAMAREZ, A.M.; GOUDANAVAR, P.S; MANVI, F. V. (2010) Isolation and Morphological Characterization of Antibiotic Producing Actinomycetes. *Trop. J. Pharm. Res.*, 9:231–236.
- [15] NINGTHOUJAM, D.S.; SANASAM, S.; NIMAICHAND, S. (2009) Screening of Actinomycete isolates from Niche Habitats in Manipur for antibiotic activity. *Am. J. Biochem. Biotechnol.*, 5:221–225,
- [16] NAGY V.; SZAKACS, G. Production of transglutaminase by *Streptomyces* isolates in solid-state fermentation. *Letters in Applied Microbiology*, v. 47, p. 122, 2008.
- [17] ZHU, Q. Y.; HACKMAN, R. M.; ENSUNSA, J. L.; HOLT R. R.; KEEN, C. L. Antioxidative activities of oolong tea. *J. Agric. Food Chem.* v. 50, p. 6929, 2002.
- [18] CHEN, C. N.; WU, C. L.; SHY, H. S.; LIN, J. K. Cytotoxic prenylflavanones from Taiwanese propolis. *J. Nat. Products.*, v.66, p. 503, 2003.
- [19] REIS, F. S.; STOJKOVIĆ, D.; SOKOVIĆ, M.; GLAMOČLIJA, J.; ĆIRIĆ, A.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. Chemical characterization of *Agaricus bohusii*, antioxidant potential and antifungal preserving properties when incorporated in cream cheese. *Food Research International*, v. 48, p. 620, 2012.
- [20] ZHANG, L.; LI, J.; ZHOU, K. Chemical and radical scavenging activities for soy protein hydrolisates prepared from microbial proteases and their effect on meat lipid peroxidation. *Bioresource Technology*, v.101, p. 2084, 2010.
- [21] LI, X.-L.; ZHOU, A.-I.; HAN, Y. Anti-oxidation and anti-microorganism activities of purification polysaccharide from *Lygodium japonicum* in vitro. *Carbohydrate Polymers*, v. 66, p. 34, 2006.
- [22] MILLER, E.D.; KAUFFMAN, C.A.; JENSEN, P.R.; FENICAL, W. (2007) Piperazimycins cytotoxic hexadepsipeptides from a marine derived bacterium of the genus *Streptomyces*. *J Org. Chem.*, 72: 323–330.
- [23] RENNER, M.K.; SHEN, Y.C.; CHENG, X.C.; JENSEN, P.R.; FRANKMOELLE, W.; KAUFFMAN, C.A.; FENICAL, W.; LOBKOVSKY, E.; CLADRY, J. (1999) Cyclomarins A-C, new anti-inflammatory cyclic peptides produced by a marine bacterium (*Streptomyces* sp.). *J. Am. Chem. Soc.* 121:11273–11276.
- [24] MOORE, B.S.; TRISCHMAN, J.A.; SENG, D.; KHO, D.; JENSEN, P.R.; FENICAL, W. (1999) Salinamides, anti-inflammatory depsipeptides from a marine *Streptomyces*. *J. Org. Chem.*, 64:1145–1150.
- [25] MASKEY, R.P.; HELMKE, E.; KAYSER, O.; FIEBIG, H.H.; MAIER, A.; BUSCHE, A.; LAATSCH, H. (2004) Anticancer and antibacterial trioxacarcins with high anti-malaria activity from a marine *Streptomyces* and their absolute stereochemistry. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 57:771–779.
- [26] ADINARAYANA, G.; VENKATESHAN, M.R.; BPIRAJU, V.V.; SUJATHA, P.; PREMKUMAR, J.; ELLAIAH, P.; ZEECK, A. (2006) Cytotoxic compounds from the marine actinobacterium. *Bio. Org. Khim.*, 32:328–334
- [27] MACHERLA, V.R.; LIU, J.; BELLOWS, C.; TEISAN, S.; NICHOLSON, B.; LAM, K.S.; POTTS, B.C.M. (2005) Glaciapyrroles A, B and C pyrrolsesquiterpenes from a *Streptomyces* sp. isolated from an Alaskan marine sediment. *J. Nat. Prod.*, 68:780–783.
- [28] LEE, H.S.; OHNISHI, Y.; HORINOCHI, S. (2001) A  $\alpha$ B-like factor responsible for carotenoid biosynthesis in *Streptomyces griseus*. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 3:95–101

Recebido: 13 de janeiro de 2014

Revisado: 07 de fevereiro de 2014

Publicado online: 19 de março de 2014