



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**PURIFICAÇÃO PARCIAL DO EXTRATO EM ACETATO DE ETILA DA
ACTINOBACTÉRIA *Streptomyces hygroscopicus* E AVALIAÇÃO DAS FRAÇÕES
QUANTO A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, CITOTÓXICA, E ANTIMICROBIANA
FRENTE À PATÓGENOS DE INTERESSE AGRÍCOLA**

THALES HENRIQUE BARBOSA DE OLIVEIRA

RECIFE

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**PURIFICAÇÃO PARCIAL DO EXTRATO EM ACETATO DE ETILA DA
ACTINOBACTÉRIA *Streptomyces hygroscopicus* E AVALIAÇÃO DAS FRAÇÕES
QUANTO A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, CITOTÓXICA, E ANTIMICROBIANA
FRENTE À PATÓGENOS DE INTERESSE AGRÍCOLA**

THALES HENRIQUE BARBOSA DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia da
Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Bioquímica e Fisiologia

Orientadora: Prof^a Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho
Coorientadora: Prof^a Dra. Leonor Alves de Oliveira da Silva

RECIFE

2020

Catálogo na Fonte:
Elaine C Barroso, CRB-4/1728

Oliveira, Thales Henrique Barbosa de

Purificação parcial do extrato em acetato de etila da Actinobactéria *Streptomyces hygroscopicus* e avaliação das frações quanto a atividade antioxidante, citotóxica, e antimicrobiana frente a patógenos de interesse agrícola / Thales Henrique Barbosa de Oliveira – 2020.

72 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Luana Cassandra Breintebach Barroso Coelho

Coorientadora: Leonor Alves de Oliveira da Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro Biociências. Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, Recife, 2020.

Inclui referências, apêndices e anexo.

1. Bactérias 2. Agentes antitumorais 3. Antioxidantes I. Coelho, Luana Cassandra Breitenbach Barroso (orient.). II. Silva, Leonor Alves de Oliveira da (coorient.) III. Título

589.95

CDD (22.ed)

UFPE/CB-2021-356



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

**PURIFICAÇÃO PARCIAL DO EXTRATO EM ACETATO DE ETILA DA
ACTINOBACTÉRIA *Streptomyces hygroscopicus* E AVALIAÇÃO DAS FRAÇÕES
QUANTO A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, CITOTÓXICA, E ANTIMICROBIANA
FRENTE À PATÓGENOS DE INTERESSE AGRÍCOLA**

APROVADA EM: 20/02/2020

BANCA EXAMINADORA:

Profª Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho (Presidente)

Profª Dra. Maria Tereza dos Santos Correia (1º Examinador – Membro Interno)

Profª Dra. Norma Buarque de Gusmão (2º Examinador – Membro Externo)

Profº Dr. Raphael Carlos Férrer de Santana (3º Examinador – Membro Externo)

AGRADECIMENTOS

A DEUS por sua infinita fidelidade e amor incondicional por minha vida, por ser a minha maior riqueza, por ser o meu braço forte, por plantar seus sonhos em meu coração e por ter tomado a frente da batalha que foi concluir esta etapa e ter me entregue a vitória.

Aos meus pais, Josué e Adriana, pela dádiva da vida e por serem os maiores incentivadores do meu crescimento profissional.

À minha amada irmã Tayná Larissa por sua parceria inigualável, cumplicidade e por sua disposição em sempre estar ombro a ombro nos momentos difíceis.

Aos meus tios Billy Graham, Andrea Barboza, Alexandra Barboza e Marlene pelo incentivo a vãos mais altos e incessantes orações.

À minha querida orientadora Prof^a Dra Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho, por todos os seus ensinamentos sobre ciência, por sempre acreditar que posso ir além e me estimular a tal, por toda a solicitude e disposição de sempre, e por sua diligência que me trouxeram ao título.

À estimada Prof^a Dra Leonor Alves por todos os ensinamentos compartilhados sobre a academia científica e sobre a vida.

À estimada Prof^a Dra Norma Buarque de Gusmão por abrir as portas do LAMAI para que eu pudesse executar os experimentos que me permitiram concluir esta etapa.

À Elizabeth Borba por ser um braço forte na citotoxicidade em meio a tantas atividades que desempenha.

Ao Pérsio Silva, Técnico do Laboratório de Cromatografia Gasosa do Departamento de Antibióticos por realizar as análises em CG-MS e pelo auxílio na interpretação dos resultados.

Aos amigos do LAMAI por trazerem à tona uma nova percepção sobre a vida, e me ajudarem a desfazer utopias que carreguei por muito tempo.

Aos técnicos do DANTI, Sr. Luís e Alana por serem tão solícitos nas inúmeras vezes que precisei de autoclavagem e reagentes.

A inigualável Fernanda, Secretária da Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, por sempre estar disposta a resolver minhas broncas referentes às burocracias de disciplinas, matrícula, SIG@ e relatórios.

Aos meus irmãos em Cristo da comunidade em Imopel pela intercessão de sempre e carinho.

A Universidade Federal de Pernambuco e ao Departamento de Bioquímica pela oportunidade ímpar de crescimento profissional e pessoal.

A FACEPE pela concessão da bolsa, fundamental durante os 2 anos de mestrado.

A todos que de alguma forma contibuíram com torcida e orações.

RESUMO

Actinobactérias ou Actinomicetos são um grupo de bactérias filamentosas, gram positivas e de elevado conteúdo genômico de guanina e citosina. Essas bactérias têm sido exaustivamente estudadas nas últimas décadas devido a sua capacidade intrínseca em produzir moléculas bioativas com propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antitumorais, imunossupressores e antioxidantes. Ante a síntese química, a purificação de moléculas bioativas é reconhecida como um método eficaz e primordial de separação de princípios ativos com base na polaridade e classes químicas que pertencem. O objetivo do presente trabalho foi purificar parcialmente o extrato em acetato de etila de *Streptomyces hygroscopicus* e avaliar as frações quanto às atividades antioxidante, citotóxica e antimicrobiana. O extrato em acetato de etila apresentou potencial antioxidante inibindo o radical catiônico ABTS, DPPH e poder redutor do íon molibdato (MO^{6+}). No ensaio citotóxico o extrato em acetato de etila mostrou inibição considerável frente às linhagens tumorais P815, HCT-116, e NCI-H929. Com respeito a atividade antifúngica, foram testados diferentes isolados fitopatógenos cedidos pela Micoteca URM da UFPE, não havendo inibição satisfatória. O extrato foi submetido a Coluna Cromatográfica de Sílica Gel G-60, eluída por sistema de solventes em série eluotrópica, as frações acetato de etila apresentaram atividade antioxidante frente aos métodos de ABTS, DPPH, com percentuais de inibição variando entre 40% e 60% e caráter dose dependente no método MO^{6+} alcançando equivalência a 142,2 μg de ácido ascórbico em 4 mg/mL. O conteúdo da fração mais ativa apresentou inibição celular considerável frente a P815, HCT-116, NCI-H929, percentual de sobrevivência superior a 80% em linhagens não-tumorais (linfócitos) e $\text{CE}_{50} > 250\mu\text{g/mL}$ em eritrócitos humanos. A análise em CG-MS revelou um pico majoritário de 67,63% equivalente ao ácido octadecadienoico na fração mais ativa.

Palavras-chave: Actinobactéria; *Streptomyces*; antioxidante; antitumoral

ABSTRACT

Actinomycetes are a gram positive filamentous bacteria group, with high guanine and cytosine genomic content. In recent years, these bacteria have been studied extensively due to its intrinsic ability of bioactive molecules production with antimicrobial, antifungal, antitumor, immunosuppressant and antioxidant properties. Prior chemical synthesis, purification process is recognized as a pivotal and main method of active principle separation based on its polarity and chemical classes. The aim of this work was partially purify ethyl acetate crude extract from *Streptomyces hygroscopicus* and evaluating the fractions opposite to antioxidant, cytotoxic and antifungal activities. The ethyl acetate crude extract showed scavenging potential in ABTS, DPPH methods and iron molybdate reducing power (MO^{6+}). In cytotoxic assay the ethyl acetate crude extract showed inhibition opposite to P815, HCT-116, and NCI-H929 lineages. Regarding to antifungal activity, phytopathogens from Micoteca URM da UFPE were tested without satisfactory activity observed. The ethyl acetate crude extract was submitted to Silica Gel G-60 Chromatographic Column, eluted by solvent system under eluotropic serie, ethyl acetate fractions showed antioxidant activity opposite to ABTS, DPPH with scavenging percentual varying from 40% to 60% and dependent dosage on MO^{6+} reaching equivalence to 142,2 μ g of ascorbic acid at 4 mg/mL. Most active fraction content showed cellular inhibition opposite to P815, HCT-116 and NCI-H929, survival percentual higher than 80% to non-tumoral lineages (lymphocytes) and $CE_{50} > 250 \mu$ g/mL to human erythrocytes. GC-MS analysis revealed majority peak of 67,63% equivalent to octadecadienoic acid in the most active fraction.

Keywords: Actinomycete; *Streptomyces*; antioxidant; antitumoral

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Vias de Infecção dos Fitopatógenos

Figura 2 – Ciclo da Infecção

Figura 3 – Biocontrole: Uma Abordagem multifatorial

Figura 4 – Síntese de ERO por via mitocondrial

Figura 5 – Síntese de Óxido Nítrico a partir da L-Arginina e Síntese de Peroxinitrito

Figura 6 – Classificação Taxonômica das Actinobactérias

Artigo 1 – Partial Purification of ethyl acetate crude extract from *Streptomyces hygroscopicus* and its bioactivity *in vitro*.

Figure 1 – Antioxidant Activity by ABTS

Figure 2 – Antioxidant Activity by DPPH

Figure 3 – Gasous Chromatogram

Figure 4 – Mass Spectrometer of Octadecadienoic Acid

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Culturas Anuais e Perenes e seus Fitopatógenos

Tabela 2 – Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio

Tabela 3 – Metabólitos Secundários das Actinobactérias

Artigo 1 – Partial Purification of ethyl acetate crude extract from *Streptomyces hygroscopicus* and its bioactivity *in vitro*.

Table 1 – Total Antioxidant Activity by Molibdate Íon Reduction

Table 2 – Cytotoxic Activity on Tumoral and Non-Tumoral Cell Lineages

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP – Trifosfato de Adenosina

NADH – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo

NADPH – Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina

ERON – Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

AKT – Proteína Quinase B

MAP – Proteína Quinase Mitogênica Ativada

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

BHT – Hidroxitolueno Butilado

BHA – Hidroxianisole Butilado

TBHQ – Terc Butil Hidroquinona

PG - Propilgalato

UV - Ultravioleta

WHO – World Health Organization

INCA – Instituto Nacional do Câncer

FDA – Food and Drug Administration

ABTS – Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)

DPPH – Difenilpicrilhidrazil

CE₅₀ – Concentração Eficiente de 50%

CG-MS – Cromatografia Gasosa Acoplada ao Espectrômetro de Massas

DMEM – Dulbecco Modified Eagle Medium

MTT - brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium]

DMSO - Dimetilsulfóxido

PBMC – Peripheral Blood Mononuclear Cells

RPM – Rotações por minuto

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

NIST – National International of Standards and Technology

µL - microlitro

mM - milimolar

g/L – gramas por Litro

SUMÁRIO	pág
1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 GERAL	14
2.2 ESPECÍFICOS	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 ORGANISMOS FITOPATOGÊNICOS	15
3.1.1 Biocontrole	18
3.2 RADICAIS LIVRES	20
3.2.1 Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio (ERON) suas Fontes, Ação em Macromoléculas e Metabolismo Celular	21
3.2.2 Relação dos Radicais Livres e a Fisiopatogenia de Doenças	25
3.3 ANTIOXIDANTES: ORIGENS E IMPORTÂNCIA	26
3.4 CÂNCER	28
3.4.1 Antitumorais	29
3.5 ACTINOBACTÉRIAS	29
3.5.1 Metabolismo Secundário das Actinobactérias	30
3.6 GÊNERO <i>Streptomyces</i>	31
3.7 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DAS ACTINOBACTÉRIAS	32
3.7.1 Atividade Citotóxica	32
3.7.2 Atividade Antifúngica	32
3.7.3 Atividade Antioxidante	33
 Artigo 1 – Partial Purification of <i>Streptomyces hygroscopicus</i> ethyl acetate crude extract and its bioactivity <i>in vitro</i>	 35
 ABSTRACT	 36
1 INTRODUCTION	37
2 MATERIAL AND METHODS	39
2.1 FERMENTATION AND EXTRACTION OF METABOLITES PRODUCED BY <i>Streptomyces hygroscopicus</i>	39
2.2 ANTIFUNGAL ACTIVITY OF CRUDE EXTRACT OPPOSITE TO	

AGRICOLE INTEREST PATHOGENS	39
2.3 PARTIAL PURIFICATION OF ETHYL ACETATE CRUDE EXTRACT	40
2.4 ANTIOXIDANT ACTIVITY	40
2.4.1 Antioxidant Activity by ABTS	40
2.4.2 Antioxidant Activity by DPPH	40
2.4.3 Total Antioxidant Activity by Molibdate Ion	41
2.5 CYTOTOXIC ASSAY	41
2.5.1 Cytotoxic Activity in Tumoral Lineages	41
2.5.2 Cytotoxic Activity in Normal Lineages by PBMC	42
2.5.3 Hemolytic Activity in Human Erythrocytes	42
2.6 GAS CHROMATOGRAPHY COUPLED TO MASS SPECTROMETRY	43
3 RESULTS	44
3.1 BIOACTIVE METABOLITES PRODUCTION BY <i>Streptomyces hygroscopicus</i>	44
3.2 ANTIFUNGAL ACTIVITY OF CRUDE EXTRACT OPPOSITE TO AGRICOLE INTEREST PATHOGENS	44
3.3 PARTIAL PURIFICATION OF BIOACTIVE METABOLITES	44
3.4 ANTIOXIDANT ACTIVITY	45
3.4.1 Antioxidant Activity by ABTS	45
3.4.2 Antioxidant Activity by DPPH	45
3.4.3 Total Antioxidant Activity by Molibdate Ion	46
3.5 CYTOTOXIC ACTIVITY	46
3.6 HEMOLYTIC ACTIVITY IN HUMAN ERYTHROCYTES	47
3.7 GAS-CHROMATOGRAPHY COUPLED TO MASS SPECTROMETRY	47
4 DISCUSSION	48
5 CONCLUSIONS AND REMARKS	50
6 SPONSORSHIP	50
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

A emergência da química sintética foi um avanço indescritível que tem facilitado a vida humana com inúmeros compostos aplicáveis em diferentes campos. Associados a química sintética, diversas ferramentas analíticas são utilizadas para potencializar os efeitos benéficos destes compostos. Tal sofisticidade é o principal fator que contribui para os avanços tecnológicos e biotecnológicos contemporâneos (Winne & Madder, 2019). Dada a versatilidade dos compostos sintéticos, estes têm sido aplicados para a melhoria da qualidade de vida como aditivos em alimentos, fármacos no tratamento de doenças e instrumentos de controle biológico. Contudo, o uso demasiado e inadvertido desses compostos pode causar contaminações ambientais residuais e toxicidade ao organismo humano (Bernharott *et al.*, 2017).

Na área agrícola, por exemplo, a resistência dos fitopatógenos aos compostos sintéticos utilizados comercialmente tem causado importantes perdas agrícolas. Este problema emergente preocupa os produtores de culturas anuais dado o comprometimento dos rendimentos e lucros da comercialização das cultivares pelos fitopatógenos (Bolívar-Anillo *et al.*, 2019). Diferentes estratégias sustentáveis têm sido desenvolvidas para combate e controle das doenças causadas por fitopatógenos, dentre elas, o uso de microrganismos. Os microrganismos atuam como agentes naturais de contenção seja por inóculo direto ou por aplicação de seus metabólitos. Assim então, são interpretados como uma via promissora e ecologicamente correta, já que não deixam resíduos e não contaminam o ambiente como os químicos agrícolas (Brito *et al.*, 2013).

Outra área importante em que os químicos sintéticos são aplicados é a esfera industrial. Na área alimentar, os compostos químicos sintéticos são incorporados nas formulações alimentares como realçadores de sabor, conservantes e retardantes de oxidação. Por outro lado, na esfera farmacológica estes compostos têm sido importantes auxiliadores eficazes da terapia antitumoral, apesar dos efeitos adversos intensos. Nos últimos anos, a pesquisa por compostos naturais ganhou impulso com um crescente e marcante interesse por compostos de fontes naturais e renováveis (Majolo *et al.*, 2019). Neste âmbito, as actinobactérias têm se demonstrado fontes naturais renováveis de compostos bioativos, após as plantas.

O filo Actinobacteria tem marcante importância na busca por compostos naturais. As actinobactérias são reconhecidas pela elevada capacidade em produzir metabólitos secundários com propriedades antimicrobianas, antitumorais, antiparasitários, imunossupressores e recentemente antioxidantes. Essas bactérias são caracterizadas por serem filamentosas, Gram+, alto conteúdo de guanina e citosina e diversidade (Stackebrandt *et al.*,

2007). Dentro das actinobactérias, o gênero *Streptomyces* se sobressai dentre os outros sendo responsáveis por mais de 80% dos antimicrobianos usados na rotina de clínica médica. Tal capacidade singular dos estreptomicetos pode estar relacionada a diversificada plasticidade metabólica em produzir metabólitos bioativos extensivamente explorados pela indústria farmacêutica (Butler, 2008; Guimarães *et al.*, 2010; Manteca & Yagiu, 2018).

Os compostos de *Streptomyces* estão contidos na lista de compostos autorizados para uso clínico pela FDA com diferentes outras propriedades tais como antibacterianos, antifúngicos, imunomoduladores, antitumorais e antiparasitários (Sun *et al.*, 2017). Neste sentido, a frutuosa exploração de *Streptomyces* consiste em uma abordagem em ascensão contínua, uma vez a admissão destas bactérias como mananciais inexauríveis de moléculas bioativas com largo espectro de ação e extraordinariamente úteis a vida humana.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

- Purificar parcialmente o extrato em acetato de etila produzido por *S. hygrosopicus* e avaliar a atividade biológica das frações obtidas.

2.2 ESPECÍFICOS

- Purificar parcialmente o extrato em acetato de etila de *S. hygrosopicus* por métodos cromatográficos.
- Avaliar a atividade antimicrobiana das frações obtidas em fungos de interesse agrícola e determinar concentração mínima inibitória.
- Avaliar a atividade antioxidante das frações obtidas.
- Avaliar atividade citotóxica das frações obtidas.
- Avaliar a atividade hemolítica das frações obtidas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ORGANISMOS FITOPATOGÊNICOS

Fitopatógeno é a denominação utilizada para descrever o organismo, usualmente um microrganismo, capaz de infectar células e tecidos vegetais causando doenças por alterações no metabolismo essencial (Dufresne & Osbourn, 2001). A infecção dos fitopatógenos às plantas é baseada no princípio ecológico desarmônico do parasitismo, onde, a partir do seu desenvolvimento no interior dos tecidos deprimam as estruturas vegetais de nutrientes essenciais a sobrevivência e saúde, devido a perturbação no trânsito de moléculas a partir do cerne (Dufresne & Osbourn, 2001; Silva *et al.*, 2019). Além disso, a metabolização dos nutrientes absorvidos culmina na produção de toxinas, que por sua vez, podem causar desde danos aos tecidos até degeneração e morte (Silva *et al.*, 2019).

O termo *fitopatógeno* (*phytopathogen*) deriva etimologicamente da junção de duas palavras de radicais gregos: *phuton* (planta) e *pathos* (doença) e foi cunhado a partir das observações de Reiking (1918), que descreveu a primeira doença em plantas com perdas econômicas nas Filipinas. Dentre os grupos de organismos fitopatogênicos estão os nemátodos, as bactérias, os vírus, os protozoários, e os fungos (Silva *et al.*, 2019). Segundo Agrios (2005), estes organismos podem infectar os tecidos vegetais por diferentes formas e vias, primariamente divididas em: Direta, Aberturas Naturais e Ferimentos (**Figura 1**).

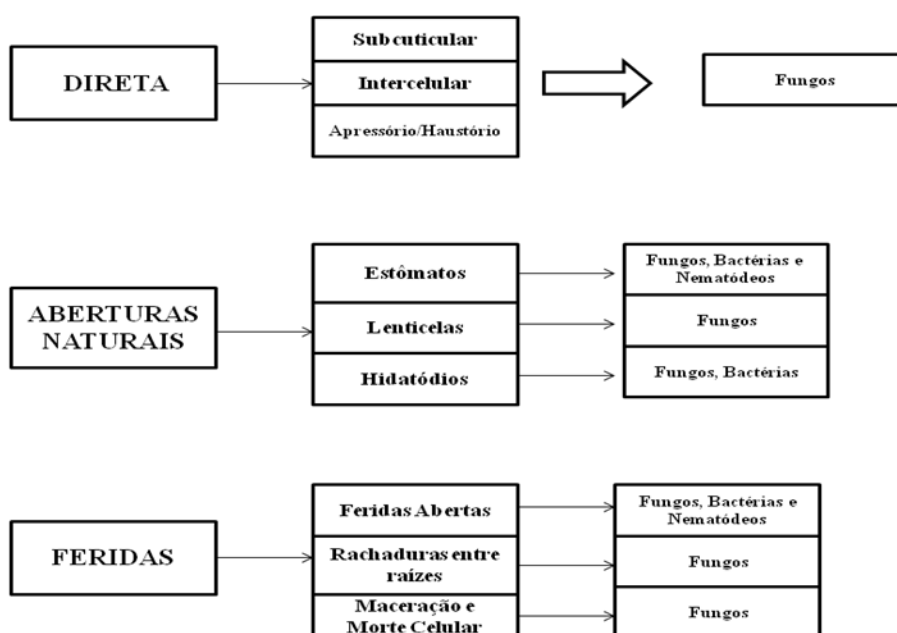


Figura 1 – Vias de Infecção dos Fitopatógenos

O desenvolvimento de doenças em plantas está diretamente relacionado ao balanço entre as características intrínsecas dos patógenos e das hospedeiras. Desta forma, fatores como: virulência do patógeno (Meena *et al.*, 2017), sistema bioquímico secretômico (Akimitsu *et al.*, 2014), susceptibilidade da planta (Castaño-Miquel *et al.*, 2017) e sistema de defesa da hospedeira (Peng *et al.*, 2019), são os principais envolvidos no processo de estabelecimento das patologias e progressão dos sintomas.

A retroalimentação do ciclo de infecção (**Figura 2**) descrito por Agrios (2005) é o principal fator contribuinte a disseminação das doenças em plantas, sendo as mais propensas as culturas anuais e perenes, o que ocasiona perdas econômicas exorbitantes. Estas culturas, em geral, referem-se a culturas domesticadas e/ou selecionadas, geneticamente modificadas, e desprovidas de características adaptativas e selvagens, alteradas em virtude do viés econômico (Shilichta *et al.*, 2018). A **Tabela 1** apresenta algumas culturas anuais e perenes e seus respectivos patógenos.

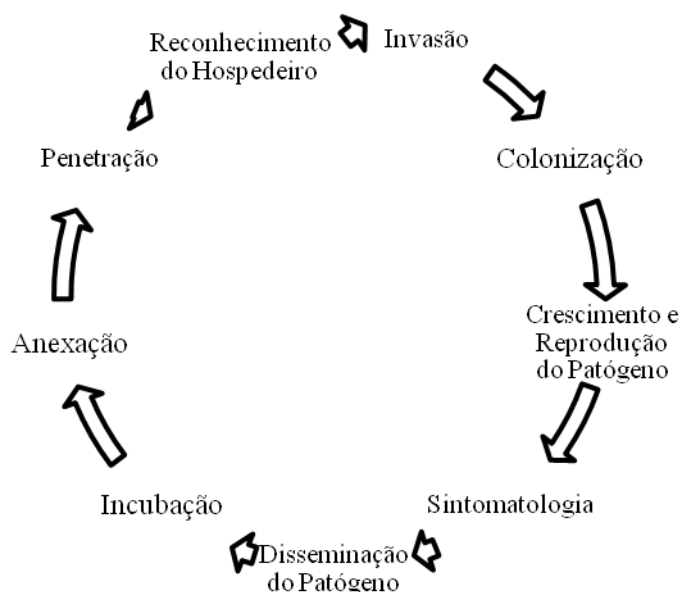


Figura 2 – Ciclo da Infecção (Adaptado de Agrios, 2005)

Tabela 1 – Culturas Anuais e Perenes e seus Fitopatógenos

Patógeno	Culturas	Referências
<i>Fusarium</i> spp., <i>Xanthomonas axonopodis</i>	Mandioca (<i>Manihot esculenta</i>)	Rubio <i>et al.</i> (2017)
<i>Pseudocercospora</i> spp.	Banana (<i>Musa</i> spp.)	Alakonya <i>et al.</i> (2018)
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Fusarium</i> spp.	Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	Abán <i>et al.</i> (2018); Liton <i>et al.</i> (2019); Aktaruzzaman <i>et al.</i> (2017)
<i>Phythium</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Phytophthora</i> spp., <i>Cercospora zea maydis</i> , <i>Puccinia sorghi</i> , <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Giberella</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp., <i>Colletotrichum</i> spp., <i>Puccinia kuehnii</i> , <i>Liefsonia xyli</i>	Milho (<i>Zea mays</i>) Cana de Açúcar (<i>Saccharum</i> spp.)	Bakker <i>et al.</i> (2016), Mueller <i>et al.</i> (2016) Faria <i>et al.</i> (2019); Funes <i>et al.</i> (2016)
<i>Pantoea ananatis</i> , <i>Dickeya zaeae</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Phytophthora nicotianae</i>	Abacaxi (<i>Ananas comosus</i>)	Ratti <i>et al.</i> (2018); Ibrahim <i>et al.</i> (2020)
<i>Bipolaris oryzae</i> , <i>Magnaporthe oryzae</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Curvularia lunata</i> , <i>Cochiobolus intermedius</i> , <i>Cochiobolus geniculatus</i> , <i>Leptosphaeria spegazzini</i>	Arroz (<i>Oryza sativa</i>)	Pak <i>et al.</i> (2017)
<i>Pellicularia koleroga</i> , <i>Colletotrichum</i> spp., <i>Cercospora coffeicola</i>	Café (<i>Coffea arabica</i> L.)	Cristóbal-Martinez <i>et al.</i> (2016)
<i>Phytophthora</i> spp., <i>Moniliophthora</i> spp., <i>Ceratobasidium theobromae</i> , <i>Ceratocystis cacaofunesta</i> , <i>Fusarium decemcellulare</i> , <i>Rosellinia</i> spp.	Cacau (<i>Theobroma cacao</i>)	Ploetz (2016)

Anualmente, ao redor do mundo, as perdas agrícolas devido a doenças em plantas causadas por patógenos alcançam percentuais aproximados a 78%, 54%, e 32% em culturas frutícolas, vegetais e cereais, respectivamente (Silva *et al.*, 2019). No Brasil, por exemplo, as perdas agrícolas por *Bipolaris* sp. podem chegar aos percentuais de 50%, nas culturas do sorgo, milho e gramas tropicais nos estados de São Paulo, Pernambuco, Distrito Federal e

Minas Gerais (Avelino *et al.*, 2019). Dentre os patógenos mais frequentes causadores de tais doenças estão os fungos, responsáveis por impactos negativos equivalentes aos milhões de dólares, ao agronegócio (Silva *et al.*, 2019). Neste contexto, dada a importância do agronegócio como principal força motriz da economia dos países em desenvolvimento e desenvolvidos, é de grande valia a intensificação na busca de estratégias e armas para mitigação e/ou minimização de tais perdas (Moreira, 2016).

Segundo Gautam *et al.* (2020) e Avelino *et al.* (2019), o combate aos fitopatógenos é munido de estratégias como: a seleção assistida por marcadores, rotação de culturas, seleção de cultivares resistentes, utilização de sementes de alta qualidade, e o uso de defensivos químicos agrícolas, com maior destaque neste último. Zhang (2018) e Bolívar-Anillo *et al.* (2019) pontuam que o controle químico é mais frequentemente utilizado devido a rápida resposta, praticidade e eficiência no tratamento de percentual considerável de culturas contaminadas, no entanto, por outro lado eleva a toxicidade do solo com consequente contaminação dos lençóis freáticos, causa perda da biodiversidade, eleva os custos de produção, causa envenenamento de humanos, e desencadeia o desenvolvimento de resistência nos patógenos com ênfase na classe química dos organofosforados.

Dada a amplitude dos efeitos nocivos causados pelos defensivos químicos, nos últimos anos, pôde-se notar um aumento no índice de pesquisas com foco na busca por compostos químicos ecologicamente corretos e de fontes naturais e/ou biológicas para o tratamento de culturas contaminadas, ademais, estratégias emergentes como a nanotecnologia e o biocontrole têm sido adotadas como medidas atenuantes das demasiadas perdas monetárias causadas por fitopatógenos (Deepa & Sreenivasa 2019).

3.1.1 Biocontrole

Biocontrole ou Controle Biológico é toda relação ecológica que visa reduzir a progressão da doença por controle, redução ou extermínio populacional do organismo causador via utilização de outro organismo ou seus produtos metabólicos. Esta relação complexa usualmente engloba: hospedeiro, organismos patogênicos, o ambiente, e os organismos não patogênicos (**Figura 3**) residentes no sítio da infecção, estes com potencial para limitar a atividade do patógeno ou aumentar a resistência do hospedeiro (Alves *et al.*, 2013; Parnell *et al.*, 2016).

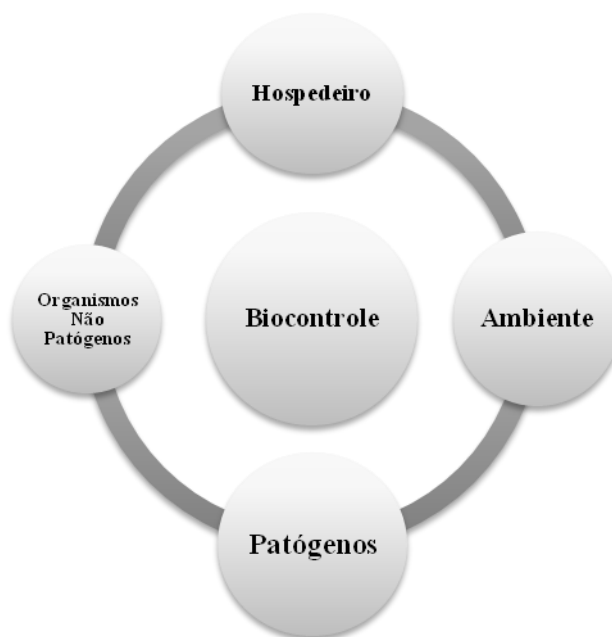


Figura 3 – Biocontrole: Uma abordagem multifatorial

Os primeiros registros de utilização do termo biocontrole datam de 1914 e 1921 quando von Tubuf & Smith se referem ao controle biológico em plantas e insetos, respectivamente. Em contraste, curiosamente, Baker (1983) descreve achados publicados por W. Roberts em 1874 acerca do antagonismo entre culturas de microrganismos, um dos princípios do biocontrole. A praticidade e facilidade do controle químico de patógenos constituem a principal barreira para a adoção das práticas de biocontrole. Tal impedimento se estabelece em virtude da falta de informações sobre a biologia e ecologia dos organismos além da difusão acerca de eficácia duvidosa e tardia de tais estratégias (Parnell *et al.*, 2016).

Recentemente, Organizações Não-Governamentais Mundiais e Autoridades Sanitárias tem empenhado esforços em impor restrições legais ao uso indiscriminado de compostos químicos agrícolas, além de se notar um aumento na preferência de produtos “*chemical-free*” (livre de químicos) entre os consumidores, embora esta classe de produtos represente apenas 3,5% no mercado mundial (Bollívar-Anillo *et al.*, 2019).

O uso de microrganismos não patogênicos e seus metabólitos como agentes de controle biológico tem constituído uma abordagem promissora no combate aos fitopatógenos. A seleção de antagonistas pelo teste *in vitro* permite que populações de microrganismos sejam avaliadas rapidamente a fim de se implantar um programa de controle biológico. Tal

abordagem é de grande valia no entendimento do comportamento e mecanismos de ação dos biocontroladores sobre os patógenos alvos (Silva *et al.*, 2013).

As primeiras práticas adotadas com microrganismos não patogênicos no controle biológico descrevem a aplicação de cepas de *Bacillus* spp., principalmente no “*biopriming*” de sementes (Marrone, 2019). As vendas no mercado do Biocontrole alcançaram a marca de 1,7 bilhões de dólares em 2015 com projeção de 2 bilhões em 2016 com taxa de crescimento anual entre 10 e 20% (van Lenteren *et al.*, 2017; www.pestoutlook.com). Com base nestes dados, é evidente o surgimento de perspectivas inovadoras no controle biológico como a criação do banco de cepas antagonistas como as espécies do fungo *Trichoderma* (TrichoBankTM), além do aprofundamento de estudos na plasticidade metabólica de *Streptomyces* na produção de compostos bioativos úteis (Parnell *et al.*, 2016).

Semelhantemente ao sucesso da aplicação de *Trichoderma* spp., espécies de *Streptomyces* vêm sendo aplicadas com resultados satisfatórios, tanto na produção de compostos bioativos como no controle de fitopatógenos *in vitro*. As evidências que sustentam tais fatos são os achados de Law e colaboradores (2017) que descrevem um percentual inibitório de 88,3% frente à *Magnaporthe oryzae*, patógeno do arroz, em ensaios em casa de vegetação. De maneira interessante, Betanur *et al.* (2019) isolou tetrapeptídeos cíclicos e derivados dicetopiperazínicos a partir do líquido metabólico da fermentação de *Streptomyces* sp. PNM-161a com atividade inibitória frente a espécies de *Burkholderia* e *Colletotrichum gloesporioides*. Vale ressaltar ainda, o potencial de *Streptomyces griseocarneus* R132 *in vitro* e *in vivo* no controle dos patógenos e promoção do crescimento da pimenta (*Capsicum annuum*) (Liotti *et al.*, 2019).

3.2 RADICAIS LIVRES

Um radical livre é qualquer molécula ou composto com a característica em comum de pelo menos um elétron não pareado no último orbital dos seus átomos. Os principais processos mediadores da transferência de elétrons entre essas moléculas são as reações redox, que adicionam ou removem elétrons destas moléculas tornando-as instáveis e reativas (Pan *et al.*, 2013). Apesar de menos comum nos sistemas biológicos devido ao alto dispêndio de energia, a cisão homolítica é outra forma de origem de um radical livre, sendo apenas possível sob influência de radiação ionizante e ultravioleta (Cheeseman & Slater, 1993). De naturezas elétricas neutras, positivamente ou negativamente carregadas estas espécies químicas são

capazes de existir e se difundir livremente sem o auxílio de ligantes ou carreadores (Lobo *et al.*, 2010).

Os radicais livres são espécies químicas com meia vida curta média na escala dos nanossegundos. Sua alta reatividade é o principal fator que contribui aos danos nas moléculas biológicas do seu entorno ou distante do seu sítio de formação via cascata de mediadores secundários. As moléculas biológicas mais propensas aos danos dos radicais livres são os lipídios, enzimas, aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos (Park *et al.*, 2009; Nimse & Palb, 2015; Kasote *et al.*, 2015).

Quando secretados em baixas concentrações, os radicais livres, desempenham papéis cruciais em processos indispensáveis dos sistemas biológicos como: modulação das respostas inflamatórias, proliferação celular, e defesa contra infecções e organismos estranhos, contudo, quando em altas concentrações causam danos celulares, teciduais e contribuem para o estresse oxidativo (Haliwell 2007; Kaminsky & Zhivotovsky, 2014; Diebold & Chandel, 2016). A principal fonte geradora de radicais livres é o metabolismo aeróbico mitocondrial, conduzido em sua essência por reações de oxidação e redução (McCord 2000; Mourier & Larsson, 2011). Os complexos condutores da fosforilação oxidativa mitocondrial catalisam a transferência de elétrons para a formação de ATP (Ray *et al.*, 2012), sendo o complexo I (NADH ubiquinona oxidoredutase) a principal fonte de radicais livres seguido pelo complexo III (citocromo bc1) (**Figura 4**).

Segundo Mourier & Larsson (2011), o ânion superóxido (O_2^-) é o radical livre mais comumente produzido pelo metabolismo aeróbico mitocondrial. É a partir do ânion superóxido que outros radicais menos instáveis são formados como a Radical Hidroxila (OH) e o Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) (Turrens 1997). Os principais radicais livres conhecidos e descritos na literatura científica além de compostos não-radicalares podem ser agrupados em um grupo único denominado espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERON) (Meo *et al.*, 2016).

3.2.1 Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio (ERON) suas Fontes, Ação em Macromoléculas e Metabolismo Celular

As Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio (ERON) são espécies químicas derivadas de reações de ativação ou redução envolvendo o oxigênio e o nitrogênio molecular. Como reportado por Haliwell (1989), as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio usualmente são divididas em dois subgrupos: compostos radicalares e não-radicalares (**Tabela 2**).

Não obstante, a mitocôndria como principal fonte de ERO, algumas organelas citoplasmáticas e enzimas são reportadas como fontes endógenas dessas espécies, por exemplo: peroxissomos (Tripathi & Walker 2016), retículo endoplasmático (Wang & Kaufman, 2016), lisossomos (Fu *et al.*, 2015), e enzimas como NADPH-oxidases (Borchi *et al.*, 2010; Lee & Yang, 2012; Kovac *et al.*, 2015), Citocromo P450 oxidase (Brown 2012), xantina oxidase (Xu *et al.*, 2015; Caro *et al.*, 2019) e óxido nítrico sintases (Brown & Borutaite, 2012). Além das vias endógenas de formação das espécies reativas de oxigênio, fatores exógenos como os xenobióticos, têm sido relatados como estimuladores da formação das espécies reativas de oxigênio (Zukowski *et al.*, 2018).

O álcool, por exemplo, é um forte indutor da formação de ERO, visto que, quando metabolizado pela enzima citocromo P450 oxidase, gera ERO como subproduto deste processo (Li *et al.*, 2016). Além disso, compostos derivados de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos também têm sido apontados como fonte de ERO, visto que, sua metabolização em quinonas, ou a absorção de luz ultravioleta por estas moléculas podem transferir energia para o oxigênio molecular, gerando ERO (Fu *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2015).

O metabolismo celular pode ser afetado pelas ações moleculares das ERO. A atividade das proteínas fosfatases 1 e 2 (PP1 e PP2A) reguladoras da via da AKT pode ser fortemente inibida via oxidação pelas ERO (Landry & Cotter, 2014). A subunidade SDS22 da PP1 atua no controle do crescimento, sobrevivência, e migração das células tumorais do câncer de mama (Paul *et al.*, 2019). Portanto, sua inibição via espécies reativas de oxigênio auxilia na progressão do câncer de mama. As ERO também são descritas como mediadoras da necrose e apoptose de células de glioma, uma vez que, induzem a translocação da proteína do tumor p53 para a mitocôndria (Qin *et al.*, 2015). Outros processos celulares também podem ser induzidos pelas ERO, desde que são ativadoras de vias de sinalização como a da proteína quinase mitogênica (MAP-quinases) que controla proliferação, sobrevivência e morte celular (Redza-Dutordoir & Averill-Bates, 2016). Além disso, a nível genômico, fatores de transcrição do DNA e modulação expressão de genes podem ser afetados pelas ERO (Furukawa *et al.*, 2017; Henkler *et al.*, 2010).

Tabela 2 – Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio (ERON)

Espécies	Reativas	de	Radicalares	Não-Radicalares
Oxigênio			Radical Superóxido (O_2^-)	Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2)
			Radical Hidroxila (OH)	Oxigênio Singlete (O_2)
			Radical Peroxil (RO_2^-)	Ácido Hipocloroso ($HClO$)
			Radical Alkoxil (RO^-)	Ozônio (O_3)
				Ácido Hipobromoso ($Hbro$)
Espécies	Reativas	de	Radicalares	Não-Radicalares
Nitrogênio			Óxido Nítrico (NO)	Peroxinitrito ($ONOO^-$)
			Dióxido de Nitrogênio (NO_2)	Cátion Nitrosil (NO^+)
				Ânion Nitrosil (NO^-)
				Trióxido de Nitrogênio (NO_3)
				Tetraóxido de Nitrogênio (NO_4)
				Ácido Nitroso (HNO_2)

Referências: Haliwell (2001) e Phaniendra (2015) (Adaptado)

A fácil difusão de espécies químicas como o peróxido de hidrogênio pelas membranas citoplasmáticas é um fator facilitador das reações de peroxidação lipídica, sendo os fosfolípidios de membrana e outros ácidos graxos os principais alvos em virtude da sua alta sensibilidade a essas reações (Zhang *et al.*, 2018). Outras macromoléculas como as proteínas podem sofrer danos desde agregação, fragmentação, inativação ou perda funcional via ataque ao arcabouço polipeptídico, até alteração das cadeias laterais de aminoácidos ou modificações estruturais pelas ERO ou seus mediadores. Esses eventos moleculares têm sido associados com o desenvolvimento de diversas doenças e desordens metabólicas (Soladoye *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2016).

Em contraste, as espécies reativas de nitrogênio são moléculas derivadas do óxido nítrico via reações catalisadas pelas enzimas Nítrico Sintase 2 e NADPH-oxidase. Estas moléculas estão envolvidas em diferentes processos metabólicos dos sistemas biológicos, onde primariamente atuam como principal linha de defesa antimicrobiana contra patógenos fagocitados, e secundariamente estão envolvidas na homeostase celular como reguladoras das respostas celulares de proliferação e inflamação (Khojah *et al.*, 2016).

As reações de síntese das espécies reativas de nitrogênio envolvem a catálise de 3 principais isoformas da enzima óxido nítrico sintase: neuronal, endotelial e induzível

(Martínez & Andriantsitohaina, 2009; Foresi *et al.*, 2016). A reação de oxidação entre o aminoácido L-arginina e o oxigênio que forma óxido nítrico e citrulina como produtos é a principal via de síntese de óxido nítrico. O óxido nítrico como molécula mãe mediante reação com outras espécies químicas, resulta nas espécies reativas de nitrogênio como o peroxinitrito, produto da reação entre o óxido nítrico e o ânion superóxido radical (**Figura 5**) (Fionda *et al.*, 2016).

Como descrito por Adams *et al.* (2015), em primeira instância as ERN desempenham um papel crucial como moléculas sinalizadoras, já que, possuem meia vida curta, são pequenas e usualmente secretadas em baixas concentrações. Apesar de úteis nos processos celulares de defesa, altos níveis intracelulares destas moléculas contribuem para o estresse nitrossativo celular responsável por efeitos deletérios como dano celular e tecidual, degradação de macromoléculas, nitrosilação de proteínas, desordens metabólicas e degenerativas, ativação das vias de apoptose, autofagia e até câncer (Chen *et al.*, 2016; Gorecki *et al.*, 2018).

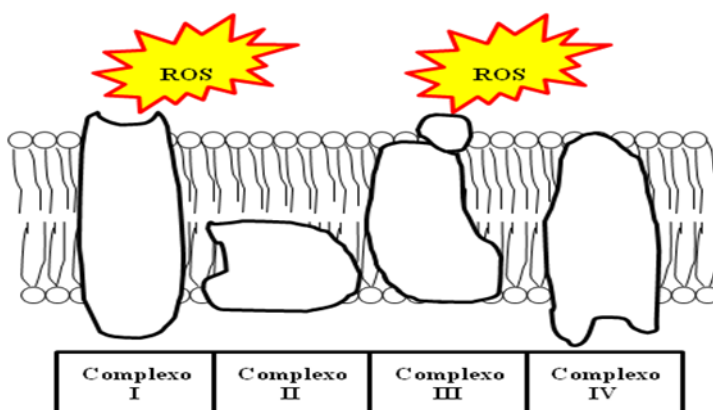


Figura 4 – Síntese de ERO por via Mitocondrial (Mourier & Larsson, 2011)

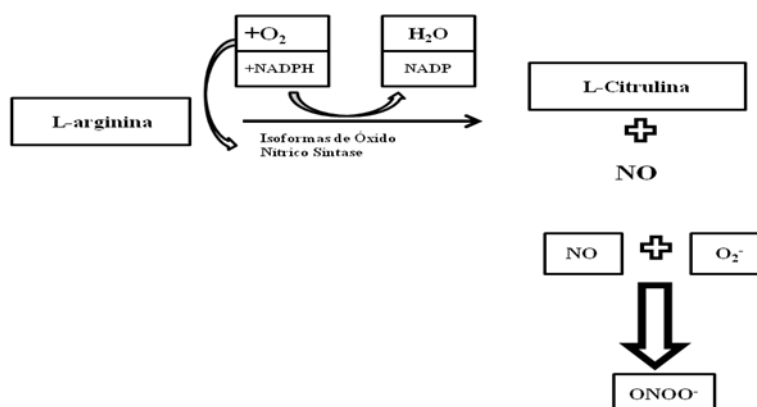


Figura 5 – Síntese de Óxido Nítrico a partir da L-Arginina e Síntese de Peroxinitrito (Fionda *et al.*, 2016)

3.2.2 Relação dos Radicais Livres e a Fisiopatogenia de Doenças

Os danos celulares e teciduais causados pela metabolização celular dos radicais livres e seus intermediários são associados com o desenvolvimento de doenças. Desde os anos 90 têm sido estudada a interação dessas espécies químicas na patogenicidade de doenças do sistema nervoso. Na Doença de Parkinson, por exemplo, o excesso de ERO é relacionado a característica perda dos neurônios dopaminérgicos (Guo *et al.*, 2018), tal excesso também afeta os hemicanais de panexinas presentes nas células cerebrais contribuindo para o agravamento da inflamação crônica cerebral por recrutamento da linhagem celular de inflamassomos NLRP3 (Ahmadian *et al.*, 2019).

Além disso, desordens metabólicas como o Diabetes também podem ser severamente agravadas por indução das ERO. Eventos moleculares como: a interação com os receptores de insulina, geração de superóxido pela autooxidação da glicose na hiperglicemia constante, o ataque autoimune às células β -pancreáticas e regulação negativa dos sistemas antioxidantes celulares são mediados por níveis elevados destas espécies químicas (Newsholme *et al.*, 2017; Ahmad *et al.*, 2017; Ullah *et al.*, 2016).

Similarmente, patologias associadas ao sistema hepático são desencadeadas por espécies reativas de oxigênio. Dentre as ações moleculares que mediam estão: a regulação do gene de deposição de colágeno na fibrose hepática, estímulo de proteínas HBx na inflamação hepática crônica (Ha *et al.*, 2010), e indução da peroxidação lipídica no dano tecidual hepático (Thuy le *et al.*, 2017). As altas concentrações de derivados lipídicos citoplasmáticos característicos da esteatose hepática não alcoólica são um fator crucial no desequilíbrio oxidativo mitocondrial o que favorece o estresse oxidativo hepático (Marseglia *et al.*, 2015).

Em detrimento de tal envolvimento dos radicais livres em patologias, os antioxidantes são apontados como promissores no campo fármaco-medicinal. Relevantes estudos sugerem valorosa atuação dos antioxidantes na prevenção e tratamento: do câncer (Atici 2018), da síndrome metabólica (Gregório *et al.*, 2016), de doenças neurodegenerativas (Sarrafchi *et al.*, 2016), doenças crônicas como diabetes (Abdali *et al.*, 2015), doenças cardiovasculares (Jain *et al.*, 2015), possuírem propriedades antiinflamatórias (Rochette *et al.*, 2016), e ação nutracêutica (Nirmala *et al.*, 2018).

3.3 ANTIOXIDANTES: ORIGENS E IMPORTÂNCIA

Segundo Haliwell e Gutteridge (1995), antioxidante é qualquer molécula, composto ou substância capaz de impedir, ou atrasar a oxidação de um substrato de forma significativa através de baixas concentrações. Os mecanismos de ação dos antioxidantes incluem: prevenção quando interferem na reação em cadeia que forma intermediários a partir dos radicais livres, varredura quando doam elétrons para estabilizar moléculas altamente reativas, reparo quando restauram a forma nativa de enzimas catalisadoras de reações redox e gênico quando estimulam os genes que codificam as enzimas relacionadas a capacidade antioxidante celular (Haliwell & Gutteridge, 1995; Niki 2010; Brewer 2011; Kusumawati & Indrayanto, 2013)

O desbalanço entre a formação de ERO e a capacidade antioxidante celular pode ser mitigado por antioxidantes de origem endógena ou exógena. Os antioxidantes de origem endógena incluem enzimas como: superóxido dismutase, catalase, glutathione redutase, e tioredoxina redutase que detoxificam óxidos e peróxidos, impedindo oxidação molecular das biomoléculas ou moléculas como: a glutathione, albumina, ácido α -lipoico, ferritina, L-carnitina, melatonina, bilirrubina, coenzima Q e o NADPH que estabilizam radicais sem o envolvimento de reações catalíticas (Jodan *et al.*, 2017; Baeurova *et al.*, 2019).

Os antioxidantes exógenos envolvem ácidos, vitaminas, minerais entre outros. São obtidos, principalmente através da dieta ou suplementação. Dentre os compostos com conhecido potencial antioxidante estão: as vitaminas C e E, os minerais zinco e selênio, fenóis e flavonóides como o ácido cafeico, o ácido gálico e a quercetina, além de terpenóides como o β -caroteno, o licopeno, a zeaxantina e a luteína (Pam-huy *et al.*, 2008; Rizzo *et al.*, 2010; Pisoschi & Pop, 2015). No que diz respeito a natureza das substâncias antioxidantes, eles podem ser sintéticos, idêntico-naturais ou naturais. Os antioxidantes sintéticos são resultado

do processo químico sintético e são amplamente aplicados principalmente como aditivos alimentares, dentre os mais utilizados estão o BHT, BHA, TBHQ e PG.

Os antioxidantes idêntico-naturais possuem características estruturais similares aos naturais, porém são sintetizados industrialmente devido a sua reprodutibilidade estrutural com manutenção da atividade. Quando oriundos de compostos produzidos por plantas, animais ou microrganismos os antioxidantes são denominados naturais (Carocho *et al.*, 2014; Carocho *et al.*, 2015). Acerca dos antioxidantes sintéticos, embora mais eficazes em pequenas concentrações que os antioxidantes naturais, a escassez de dados sobre os efeitos no uso em longo prazo, a associação entre a patogênese dos processos alérgicos (Zaknun *et al.*, 2012), mediação dos eventos de carcinogênese (Seneviratne *et al.*, 2016) e o uso de altas concentrações de antioxidantes sintéticos podem ser fatores relevantes na intensificação da pesquisa por fontes naturais, renováveis e promissoras nos últimos anos (Taghvaei & Japari, 2015; Carocho *et al.*, 2014; Nirmala *et al.*, 2018). Assim então, vale ressaltar que os antioxidantes naturais são preferíveis pelos consumidores (Karadag *et al.*, 2016), mais seguros (Torres-Fuentes *et al.*, 2015), menos reativos, aparentam ser mais compatíveis com a natureza metabólica humana além de afetarem positivamente a saúde (Akbarirad *et al.*, 2016) e não possuírem limites tóxicos de consumo descritos (Lorenzo *et al.*, 2018).

As substâncias antioxidantes são pertencentes a uma variedade de classes químicas, a literatura publicada descreve antioxidantes com estrutura molecular terpenóide (Wang *et al.*, 2019; Mohandas & Kumaraswamy, 2018), flavonóides (Yakoub *et al.*, 2018; Jarial *et al.*, 2016), taninos (Muccilli *et al.*, 2017; Jugran *et al.*, 2016), alcalóides (Koolen *et al.*, 2017; Yin *et al.*, 2016), ácidos (Yang *et al.*, 2015) entre outros. As distintas classes químicas que compreendem os antioxidantes possibilitam uma aplicação multifacetada destas moléculas nos mais variados âmbitos, como alimentício, cosmetológico e fármaco-medicinal.

A principal ação das substâncias antioxidantes como aditivos em dermo-cosméticos é a antiidade que consiste na melhora e proteção da pele aos efeitos e danos causados pela radiação solar UV e desbalanço oxidativo celular (Kusumawati & Indrayanto, 2013). Este efeito se dá pelo estímulo na produção de colágeno que mantém a integridade e elasticidade da pele. Dentre as principais substâncias antioxidantes presentes em dermo-cosméticos comerciais estão a coenzima Q10, as vitaminas C e E, e o resveratrol (Montenegro 2014).

No campo alimentício, os antioxidantes desempenham importantes papéis como os de agentes conservadores ou inibidores da oxidação, especialmente de ácidos graxos insaturados que rapidamente sofrem peroxidação o que resulta na rancidez oxidativa de manteigas e óleos (Schaub *et al.*, 2015; Silva & Lidon, 2016).

3.4 CÂNCER

Atualmente, o câncer é um problema persistente de Saúde Pública, sendo a 2ª causa de mortes ao redor do globo, com custos econômicos que superam os bilhões de dólares anuais. Dados da Organização Mundial da Saúde apontam uma estimativa aproximada a 9,6 milhões de mortes no ano de 2018, o que corresponde a uma taxa de 1 a cada 6 mortes devido ao câncer, 70% destas nos países em desenvolvimento e subdesenvolvidos (WHO, 2018).

Câncer é um termo universal utilizado para descrever o rápido e anormal crescimento celular de caráter neoplásico ou maligno que pode progredir a uma doença localizada ou sistêmica que acomete tecidos, órgãos e até todo o sistema orgânico (INCA, 2018). O desenvolvimento dos mais variados tipos de cânceres corresponde à união de fatores intrínsecos e extrínsecos a cada indivíduo, sendo os mais comuns agentes químicos, físicos e biológicos (Bhat *et al.*, 2017). Além disso, fatores adicionais como: àqueles relacionados aos hábitos, epigenética, senilidade celular, e metabolismo celular têm sido também associados a evolução dos cânceres (Jackaman *et al.*, 2017).

A classificação dos tipos de cânceres é baseada de acordo com suas origens histológicas, o que permite os dividir em carcinoma e sarcoma. Os carcinomas têm origem ectodérmica com tropismo aos tecidos de revestimento e de superfície enquanto os sarcomas origem mesodérmica sendo característicos em órgãos internos e partes moles (Paiva *et al.*, 2018; Barber *et al.*, 2018). Diferentes tipos de abordagens têm sido utilizados no tratamento do câncer sendo adotadas em detrimento da localização, agressividade e características do tumor. As terapias antitumorais utilizadas na rotina clínica são conhecidas pelos efeitos colaterais desagradáveis além de repercutir na estabilidade orgânica tais como implicações imunológicas e morte celular, devido a baixa especificidade dos quimioterápicos. A substituição destas estratégias tem se constituído um desafio constante, o que implica no desenvolvimento de abordagens mais apuradas, visando a redução das desvantagens e prognóstico satisfatório (Pucci *et al.*, 2019).

Avanços no campo da Nanomedicina, Imunoterapia, Radiômica, Patômica e Termoterapia, têm sido relatados com resultados satisfatórios na terapia antitumoral. Contudo, tais tecnologias de ponta demonstram caráter utópico no cenário atual da terapia antitumoral, tendo em vista principalmente seu alto custo e barreiras burocráticas no patenteamento e aquisição. Desta forma, são procurados substitutos temporários de caráter semelhante. Os compostos naturais tem se apresentado bastante promissores, neste contexto, com especial

atenção aos fitoquímicos e metabólitos bioativos produzidos por microrganismos (Jaiswara *et al.*, 2019).

3.4.1 Antitumorais

Ao longo dos anos, a utilização dos agentes quimioterápicos na terapêutica antitumoral apresenta resultados satisfatórios apesar dos intensos efeitos adversos que causam (Patel & Hataling, 2020). Dados presentes na literatura científica mostram compostos antitumorais naturais pertencentes a classe dos policetídeos (Wang *et al.*, 2020), macrolídeos (Pérez *et al.*, 2016), compostos hidroxilados (Lin *et al.*, 2018), compostos carbonados (Cai *et al.*, 2016), peptídeos e proteínas (Serna *et al.*, 2018). A variabilidade estrutural destes compostos permite a aplicabilidade no tratamento de variados cânceres devido aos diferentes mecanismos de ação na morte de células doentes, sendo o mais comum as vias de apoptose celular (Vichaya *et al.*, 2015).

A atenção voltada aos compostos naturais desempenha um papel crucial na exploração incessante de nichos biológicos. Tal investigação tem resultado em compostos aprovados pela FDA para o uso na terapia antitumoral. Uma revisão sistemática realizada por Sun e colaboradores (2017) descreve compostos atualmente utilizados na rotina clínica como Fluorouracil, isolado de esponjas do mar, Etoposídeo e Paclitaxel isolado de espécies vegetais, e ainda, Dactinomicina, Streptozocina, Bleomicina, e Doxorubicina isolados a partir de espécies de actinobactérias do gênero *Streptomyces*.

3.5 ACTINOBACTÉRIAS

Actinomicetos ou Actinobactérias compreendem um filo de bactérias filamentosas, Gram-positivas, com alto conteúdo genômico de guanina e citosina, e de hábito majoritariamente saprofítico. A morfologia macroscópica das colônias pode apresentar características como: micélio aéreo de diferentes cores, opacidade característica, firme aderência a superfície do Ágar, consistência áspera, micélio aéreo não pulverulento, e aspecto ressecado. Em geral, o ciclo de vida compreende as fases de: germinação, desenvolvimento do micélio vegetativo, formação do micélio aéreo seguido de segregação hifal e septação, esporulação e dispersão. As actinobactérias são organismos onipresentes no solo, seu hábito favorece a competição interespecífica mediada pela produção dos antibióticos por essas bactérias numa relação antagonista.

O filo *Actinobacteria* compreende todas as actinobactérias conhecidas, este grupo de bactérias está contido em um grupo maior denominado “*Terrabacteria*” (Superson *et al.*, 2019). O filo *Actinobacteria* contém as classes: Acidothermales, Actinomycetales, Bifidobacteriales, Catenulisporales, Cryptosporangiales, Frankiales, Geodermatophilales, Glycomycetales, Jatrophihabitantes, Jiangellales, Kineosporiales, Micrococcales, Micromonosporales, Mycobacteriales, Nakamurellales, Propionibacteriales, Pseudonocardiales, Sporichthyales, Streptomycetales e Streptosporangiales (Sen *et al.*, 2014; Nouioui *et al.*, 2018; Salam *et al.*, 2020).

Dentre os gêneros de actinobactérias existentes estão: *Actinomadura*, *Actinomyces*, *Nocardia*, *Nocardiosis*, *Saccharomonospora* e *Streptomyces*, estes podem ser encontrados nos mais variados habitats como solo, água, plantas, desertos, geleiras entre outros (Araújo-Melo *et al.*, 2016). O gênero *Streptomyces* é o mais vastamente estudado contendo mais de 500 espécies descritas, e sendo responsável por mais de 80% dos antibióticos conhecidos e utilizados na rotina clínica (Tortora *et al.*, 2012). Além da conhecida capacidade em produzir antibióticos, as actinobactérias também são relatadas como importantes produtoras de antifúngicos, anticancerígenos, imunomoduladores, herbicidas entre outros. Esta capacidade pode estar relacionada à plasticidade metabólica desses organismos necessária a conquista e sobrevivência em variados nichos e ambientes (Manteca & Yagiu, 2018).

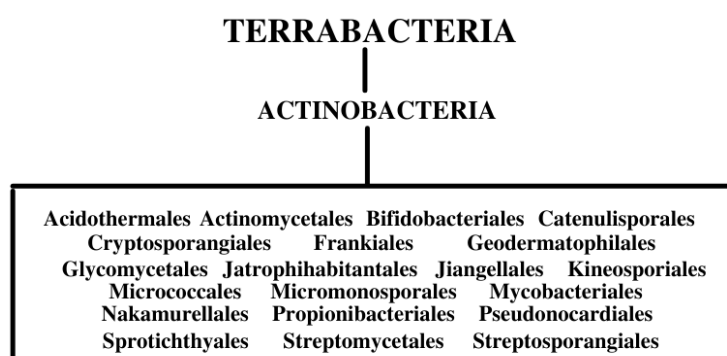


Figura 6 – Classificação Taxonômica das Actinobactérias (Sen *et al.*, 2014; Nouioui *et al.*, 2018; Superson *et al.*, 2019; Salam *et al.*, 2020)

3.5.1 Metabolismo Secundário em Actinobactérias

O metabolismo compreende o conjunto de reações catalisadas à subsistência da vida de um organismo. Nos organismos microscópicos é dividido em trofofase e idiofase (Rajnisz *et al.*, 2016). A trofofase inclui as reações químicas necessárias ao crescimento vegetativo dos microrganismos, e é onde se obtém a energia necessária por reações de oxidação de

substratos. Enquanto, a idiofase é a etapa do metabolismo em que, usualmente são produzidos os metabólitos secundários, substâncias não necessárias ao crescimento ou manutenção da vida (Demain & Fang 1995). Os metabólitos secundários, em geral, são produzidos, principalmente por estímulos exógenos, escassez de nutrientes, interações interespecíficas e incluem toxinas, pigmentos, e compostos bioativos como antibióticos, antifúngicos, antitumorais, antioxidantes e outros (van der Meij *et al.*, 2017).

3.6 GÊNERO *Streptomyces*

O vocábulo *Streptomyces* foi cunhado a partir das investigações do microbiologista alemão Ferdinand Cohn, quando em 1875, ao observar organismos filamentosos isolados a partir do ducto lacrimal humano, denominou o que atualmente é conhecido por Actinomicetos de *Streptotrix* cujo significado remete a “cabelo enrolado”. A denominação actinomicetos traz o significado de “fungo radial”, sendo posteriormente propostos por Waksman & Henrici (1943) como um grupo de transição entre fungos e bactérias (Waksman & Henrici, 1943; Williams *et al.*, 1989; Goodfellow, 2012; Stackebrandt & Schumann, 2006).

Em termos taxonômicos, o gênero *Streptomyces* está incluso no Filo *Actinobacteria*, ordem *Streptomycetales* e família *Streptomycetaceae* (Nouioui *et al.*, 2018). Seu desenvolvimento e crescimento é usualmente restrito a pH neutro e alcalino e conforme observado por Ferdinand Cohn possuem desenvolvimento filamentoso semelhante aos fungos com espessura de filamento variando de 0,5 a 1,2 μm de diâmetro. Sua taxonomia e caracterização bioquímica permitem sua diferenciação a partir da constituição da parede celular que contém quantidade variada de ácido L-diaminopimelico e glicina. (Dietz & Matthews, 1971; Dyson, 2011; Madigan *et al.*, 2012).

O ciclo de vida dos representantes de *Streptomyces* se inicia a partir da germinação do esporo, que se desenvolve em um micélio vegetativo que se ramifica em hifas que penetram no substrato para absorção dos nutrientes orgânicos necessários ao metabolismo através de enzimas excretadas extracelularmente (Padilla *et al.*, 2015). Na trofofase, tal micélio progride ao micélio aéreo que então, sofre diferenciação morfológica em direção a septação e esporogênese. Enquanto isso na idiofase, o metabolismo secundário é acionado e a partir das reações que o constituem são produzidos os metabólitos bioativos tais como antibióticos, pigmentos e toxinas. Tal ciclo é finalizado pela liberação de esporos (Bibb, 2005; Hwang *et al.*, 2014). Os esporos de *Streptomyces* são pequenos, quando em contraste com o de bactérias como as do gênero *Bacillus* sendo sua estrutura mais resistente a condições desfavoráveis, permanecendo viáveis por longos períodos (Flärdh & Buttner, 2009).

A organização genética dos representantes do gênero *Streptomyces* consiste de um único cromossomo linear, com tamanho que varia entre 8 MB a 10 MB, e plasmídeos de conformação linear ou circular dependendo da espécie (Hwang *et al.*, 2014). Vale ressaltar que é no genoma dessas bactérias que encontram-se os genes codificadores das enzimas que catalisam a síntese dos metabólitos bioativos via metabolismo secundário (Antunes *et al.*, 2013).

3.7 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DAS ACTINOBACTÉRIAS

3.7.1 Atividade Citotóxica

As investigações do potencial antitumoral dos metabólitos secundários das actinobactérias são prévias a aprovação do primeiro composto antitumoral pela FDA em 1964 (Sun *et al.*, 2017). Este tipo de abordagem mantém-se remanescente e em constante crescimento com compostos pertencentes a classe das antraciclinas (Dhakal *et al.*, 2018), dos bifenilos (Taechowisan *et al.*, 2017), macrolatamas de tetramato policíclico (Daneesha *et al.*, 2019), derivados da quinolina (Wang *et al.*, 2011), entre outros.

Neste contexto, vale ressaltar os achados de Ravi *et al.* (2017) que isolaram um derivado carboxílico eficaz frente as linhagens de câncer de mama (MCF-7), células de glioma (LN-18), câncer cólonrretal (HCT-116), a partir de *Streptomyces globosus*. O extrato bruto em acetato de etila de *Streptomyces* sp. ANAM-5 foi eficaz na regressão de tumores de camundongos com percentual de regressão superior a 75% (Haque *et al.*, 2016). Noomunal *et al.* (2016) isolaram um novo butanoato denominado streptanoato a partir do líquido metabólico de *Streptomyces* sp. DC3, que apresentou inibição celular das linhagens tumorais de câncer de pulmão (A549), carcinoma cervical humano (HeLa), e Leucemia Limfoblástica Aguda (Molt-3).

3.7.2 Atividade Antifúngica

Inúmeros compostos bioativos com atividade antifúngica têm sido reportados na literatura científica. Dentre os mecanismos de ação destes compostos estão a clivagem de parede celular, inibição da síntese de ergosterol (Yang *et al.* 2019), entre outros. Dentre os compostos isolados dotados de atividade antifúngica estão os policetídeos produzidos por *Streptomyces* sp 3-10 (Lyu *et al.*, 2017), os diterpenóides reportados por Bi e Yu (2016), derivados fenazínicos descritos por Chen *et al.* (2019), compostos não-poliênicos (Nafis *et al.*,

2018), os macrolídeos produzidos por *Streptomyces* sp. HG29 (Khebizi *et al.*, 2018) e outros compostos como Monoacetato de 2,5-bis (hidroximetil) furano produzido por *Streptomyces* sp. CEN26, e Éster metílico do ácido 10- (2,2-dimetil-ciclo-hexil)-6,9-di-hidroxi-4,9-dimetil-dec-2-enóico produzido por *Streptomyces hydrogenans* DH16 (Kaur *et al.*, 2016).

3.7.3 Atividade Antioxidante

Recentemente, é notável uma emergente exploração das actinobactérias como fontes de moléculas antioxidantes (**Tabela 3**), os compostos produzidos por essa classe de bactérias apresentam potencial promissor de substituição àqueles encontrados em espécies vegetais (Zou *et al.*, 2014). Similarmente aos antioxidantes sintéticos de estrutura fenólica, vale ressaltar os achados de Rani *et al.* (2018) que recuperaram compostos fenólicos a partir do líquido metabólico de *Streptomyces cellulosae* TE217 com considerável atividade antioxidante. Rao *et al.* (2017) ao analisarem o líquido metabólico de *Streptomyces coelicoflavus* BC01, isolaram dois compostos aminados e 1 composto carboxilado capazes de inibir o radical instável DPPH e apresentarem potencial redutor do íon ferroso. Cheng *et al.* (2016) isolaram um derivado de quinolona com potencial melhorador do estresse oxidativo celular. Ramalingam e Rajaram (2016) reportaram a produção de um derivado hidroxilado produzido por *Streptomyces variabilis* KB149559 capaz de inibir o peróxido de hidrogênio, o radical hidroxil e o radical DPPH.

Tabela 3 – Metabólitos Secundários das Actinobactérias

Composto	Classe Bioativa	Actinobactéria	Referência
Reveromicina A e B	Antifúngico	<i>Streptomyces yanglinensis</i> 1307	Lyu <i>et al.</i> , (2017)
Cloroxaloterpina A e B	Antifúngico	<i>Streptomyces</i> sp., SN114	Bi & Yu (2016)
Strefenazinas A-C	Antifúngico	<i>Streptomyces</i> YIMPH20095	Chen <i>et al.</i> , (2019)
Atimicina A19	Antifúngico	<i>Streptomyces albidoflavus</i> AS25	Nafis <i>et al.</i> , (2018)
Oligomicinas	Antifúngico	<i>Streptomyces</i>	Khebizi <i>et al.</i> ,

		<i>diastatochromogenes</i>	(2018)
Dinactina	Antitumoral	<i>Streptomyces</i> <i>puniceus</i> strain AS13	Hussain <i>et al.</i> (2018)
Iturina A6	Antitumoral	<i>Streptomyces</i> sp. SSA13	Aftab & Sajid (2017)
Quinohemanina	Antitumoral	<i>Streptomyces</i> sp. CPCC200497	Jiang <i>et al.</i> (2018)
Rebeccamicina	Antitumoral	<i>Lentzea</i> <i>aerocolonigenes</i>	Pommerhene (2019)
Hidroxi marilone C	Antitumoral	<i>Streptomyces badius</i>	El Sayed <i>et al.</i> , (2016)
5-amino-2(6-(2-hidroxietil)-3-oxononil)ciclo-hex-2-enona	Antioxidante	<i>Streptomyces</i> <i>coelicoflavus</i> BC01	Rao <i>et al.</i> (2017)
8 (aminometil)-7-hidroxi-1-(1-hidroxi-4-((hidroximetoxi)-2,3-dimetil(butil-2-metil dodecahidrofenantren-9(1H)-ona	Antioxidante	<i>Streptomyces</i> <i>coelicoflavus</i> BC01	Rao <i>et al.</i> (2017)
1 ((E)-1-etilhex-1-em-1-il)2-((E)-2-etilidenehexil)ciclohexano-1,2-dicarboxilato	Antioxidante	<i>Streptomyces</i> <i>coelicoflavus</i> BC01	Rao <i>et al.</i> (2017)
Ácido 4-metil benzóico	Antioxidante	<i>Saccharomonospora</i> <i>oceani</i> VJDS-3	Indupalli <i>et al.</i> (2018)
Angelolina A	Antioxidante	<i>Streptomyces</i> sp. SBT345	Cheng <i>et al.</i> (2016)

ARTIGO 1: Partial Purification of *Streptomyces hygrosopicus* ethyl acetate crude extract and its bioactivity *in vitro*.

ABSTRACT

Actinomycetes are a gram positive filamentous bacteria group, with high guanine and cytosine genomic content. In recent years, these bacteria have been studied extensively due to its intrinsic ability of bioactive molecules production with antimicrobial, antifungal, antitumor, immunosuppressant and antioxidants properties. Prior chemical synthesis, purification process is recognized as a pivotal and main method of active principle separation based on its polarity and chemical classes. The aim of this work was partially purify ethyl acetate crude extract from *Streptomyces hygroscopicus* and evaluating the fractions opposite to antioxidant, cytotoxic and antifungal activities. The ethyl acetate crude extract showed scavenging potential in ABTS, DPPH methods and iron molybdate reducing power (MO^{6+}). In cytotoxic assay the ethyl acetate crude extract showed inhibition opposite to P815, HCT-116, and NCI-H929 lineages. Regarding to antifungal activity, phytopathogens from Micoteca URM da UFPE were tested without satisfactory activity observed. The ethyl acetate crude extract was submitted to Silica Gel G-60 Chromatographic Column, eluted by solvent system under eluotropic serie, ethyl acetate fractions showed antioxidant activity opposite to ABTS, DPPH with scavenging percentual varying from 40% to 60% and dependent dosage on MO^{6+} reaching equivalence to 142,2 μ g of ascorbic acid at 4 mg/mL. Fractions content showed cellular inhibition opposite to P815, HCT-116 and NCI-H929, survival percentual higher than 80% to non-tumoral lineages (lymphocytes) and $CE50 > 250 \mu$ g/mL to human erythrocytes. GC-MS analysis revealed majority peak of 67,63% equivalent to octadecadienoic acid in the most active fraction.

1 INTRODUCTION

The urge for new compounds has led the seeking for useful compounds to human life. The advent of synthetic chemistry has made human life easier due to the numerous compounds applicable for human interests. This area sophistication is the main factor that contributes to technological and biotechnological advances (Winee & Madder 2019). Also, the synthetic chemistry has helped in the new compounds industrial demand solving yielding versatile and effective compounds for human use. In contrast, it is worthy of mention that the synthetic compounds must be used carefully since overuse or misuses may cause side effects either by human body metabolization and residual environmental contamination (Bernharott *et al.*, 2017).

Regarding human usage of synthetic compounds, in the agricole field, the last years were marked by phytopathogen resistance to commercial synthetic compounds. This is an important problem which worries annual crops producers, since, these pathogenic organisms compromise profits from crops commercialization (Bolívar-Anillo *et al.*, 2019). In addition to pathogenic fungal problem, the application of commercial synthetic chemical are often followed by the soil and crops residual contamination. In this sense, a sustainable alternative on the fighting and phytopathogen-disease control are the microbial sources. The microorganisms act as control natural agents and are understood as a promising and ecofriendly way without leaving residues or contamination to the environment (Brito *et al.*, 2013).

Similarly, the application of synthetic chemical embraces the industrial field, it is noteworthy the usage of antioxidant compounds and flavour enhancers in food as well as synthetic drugs in antitumor therapy. In the same way, the long-term intake of synthetic chemicals may trigger disease development besides intense side effects and resistance in the case of cancer treatment. In this context, the interest for natural compounds is noticeable (Majolo *et al.*, 2019). The research for natural products has been increased once these compounds are preferred by consumers, no consumption limit, and human metabolism compatibility. Within the natural promising sources the actinomycetes are highlighted as a renewable natural source, after plants.

The phylum Actinobacteria has important relevance due to increased capacity on secondary metabolites production with antimicrobial, antitumor, antioxidant, antiinflammatory, antiviral, antihelminthic, and immunosuppressors properties. Actinomycetes are very deserve,

ubiquitous, high GC content, Gram +, filamentous bacteria (Stackebrandt *et al.*, 2006). These bacteria are responsible for more than 80% bioactive metabolites with antimicrobial properties adopted in clinic routine up to date. Focusing on the *Streptomyces* genus, it is characterized by a singular metabolic plasticity on bioactive metabolites production being majoritarily explored by pharmaceutical industry (Butler, 2008; Guimarães *et al.*, 2010; Manteca & Yagiu, 2018).

The compounds from *Streptomyces* genus integrates FDA approved compounds list to clinical usage with several occurrences reported on scientific literature (Sun *et al.*, 2017). Despite these facts, actinomycetes exploration continues to provide useful compounds what enable to assume that these bacteria are inexhaustible fountain of bioactive molecules with a wide range of action. In the light of this fact, the aim of this work was to carry out the partial purification of ethyl acetate extract from *Streptomyces hygroscopicus* and evaluate the bioactivity *in vitro* from purification process fractions.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 FERMENTATION AND EXTRACTION OF METABOLITES PRODUCED BY *Streptomyces hygroscopicus*

The actinomycete *Streptomyces hygroscopicus* was procured from Federal University of Pernambuco Antibiotics Department Microorganisms Collection (UFPEDA) where it is under subscription number 3370. The fermentation process was carried out according to parameters previously described by Borba (2016). A pre culture was prepared in ISP-2 broth and kept at 37°C and 140 RPM for 48 hours. After that, the pre culture was transferred at a rate of 10% v/v to Bioflo 110 Brunswick Scientific Fermentor (7L capacity) with 4L of MPE fermentation medium. The fermentation process was carried out for 96 hours under 200 RPM, 37°C and compressed air cooling system at proportion of 1:1 v/v, parameters set and maintained until the end of fermentation process.

After 96 hours of fermentation the product was harvested and micelial cake was separated from metabolic liquid by centrifugation at 16.480G from 7 minutes. The micelial cake was taken to extraction. The extraction was carried out under polarity increasing demand by organic solvents: hexane and ethyl acetate. The mixture was incubated in a rotatory incubator under 160 RPM for 30 minutes at 25°C. The extraction product was collected by vacuum filtration and concentrated in rotatory evaporator.

2.2 ANTIFUNGAL ACTIVITY OF CRUDE EXTRACT OPPOSITE TO AGRICOLE INTEREST PATHOGENS

Antifungal Activity Evaluation was carried out by *Food Poisoning* method as described by Ali *et al.* (2017). Fungal lineages used were URM 7083 *Fusarium oxysporum*, URM 2703 *Macrophomina phaseolina*, URM 3208 *Sclerotium rolfsii*, URM 5522 *Colletotrichum gloesporioides*, URM 4014 *Rhizoctonia solani*, URM 5632 *Cladosporium tenuissimum*, e URM 5903 *Fusarium solani* kindly given by Pernambuco Federal University Micoteca URM. The fungi were cultivated in Sabouraud Agar at 30°C for 7 days. Ethyl acetate crude extract concentrations 10, 5, 2,5, 1,25, and 0, 625 mg/mL were incorporated to culture medium followed by mycelial plug disposal (0,9 mm) at plate centre. The plates were incubated at 30°C for 10 days. At the end of 10 days of incubation, colony diameter was measured and inhibition percentual was calculated according the following equation:

$$\% \text{ Inhibition} = (\text{DC} - \text{DS} / \text{DC}) * 100$$

Where: DC is control diameter and DS is sample diameter.

2.3 PARTIAL PURIFICATION OF ETHYL ACETATE CRUDE EXTRACT

For partial purification were used 1,6 g of ethyl acetate crude extract. The extract was submitted to column chromatography in silica gel G60 (0,063-0,2mm/ 70-230 mesh ASTM) packaged and eluted by eluotropic serie using organic solvents combination of hexane, ethyl acetate and methanol. The fractions were collected and analysed by thin layer chromatography, those that presented similar pattern were concentrated and evaporated.

2.4 ANTIOXIDANT ACTIVITY

2.4.1 Antioxidant Activity by ABTS

The ABTS^{•+} free radical scavenger method was performed as described by Ree *et al.* (1999) with slight modifications. ABTS^{•+} radical was prepared through oxidation of a ABTS solution (7 mM) to its cationic radical by potassium persulfate (2,45mM) addition and kept in the dark for 16 hours. Cationic Radical Absorbance was adjusted to 0.700 ± 0.05 at 734 nm using absolute ethanol. Antioxidant Activity was carried out in assay tubes through addition of 10 μL from dillutions to 1 mL of ABTS^{•+} cationic sollution and left in the dark for 30 minutes. The absorbance was measured at 734 nm by UV/Vis Evollution⁶⁰ Spectrophotometer manufactured by Thermo Scientific. Ascorbic Acid was used as standard. The experiments were carried out in triplicate. Scavenger potential was evaluated according the following equation:

$$\% \text{ Scavenger} = (\text{ABSc} - \text{ABSs} / \text{ABSc}) * 100$$

Where: ABSc is control absorbance and ABSs is sample absorbance or ascorbic acid

2.4.2 Antioxidant Activity by DPPH

The scavenger potential of DPPH was evaluated as described by Molyneux (2004). A DPPH methanolic solution was prepared at a concentration of 2×10^{-2} g/L, 150 μL from

dilutions were combined to 150 μ L of DPPH solution and incubated in the dark for 30 minutes. The absorbance was measured at 517 nm by microplate reader. Ascorbic Acid was used as standard. The experiments were carried out in triplicate. The scavenger potential was calculated using the same formula of ABTS method calculation.

2.4.3 Total Antioxidant Activity by Molibdate Íon

Total Antioxidant Potential was evaluated through evaluation of complex MO^{6+} to MO^{5+} reduction under acidic pH as described by Prieto *et al.* (1999). 0,1 mL from dilution were combined to 1 mL of Phosphomolybdenum Reagent (4 mM Ammonium Molibdate, 28 mM Monobasic Sodium Phosphate and 0,6 M Sulphuric Acid) in 2 mL microtubes. Tubes were capped and incubated at 95°C for 90 minutes. The tubes were capped and incubated at 95°C for 90 minutes. The samples were cooled to room temprature, centrifuged (1000 RPM / 5 minutes) and absorbance was taken at 695 nm using UV/Vis Evollution⁶⁰ Spectrophotometer manufactured by Thermo Scientific opposite to blank (1 mL of Phosphomolybdenum Reagent added to 0,1 mL of solvent). The experiments were carried out in triplicate. The reducing power of molibdate íon was calculated opposite to a straight pattern of ascorbic acid (20-180 μ g/mL) and expressed by μ g/equivalent ascorbic acid.

2.5 CYTOTOXIC ASSAY

2.5.1 Cytotoxic Activity in Tumoral Lineages

The cytotoxic activity was carried out using tumoral lineages obtained from Rio de Janeiro Cells Bank. Cellular Lineages used were HCT-116 (human colorretal cancer), MCF-7 (breast adenocarcinome), cultivated in RPMI 1640 medium and NCI-H292 (human lung mucoepidermoid carcinome) and P815 (murine mastocitome) cultivated in DMEM medium. The medium were supplemented with bovine fetal serum 10% and streptomycine (100 μ g/mL) and penicillin (100 μ g/mL). The cells were kept under 37°C and CO_2 5% in incubator. The assay was carried out in 96 wells, where a suspension (10⁵ células/mL) of each celular lineage was placed in each well. The cytotoxic assay was performed through MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2-5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium) (Mosmann, 1983). After 72h, 25 μ L of MTT were added to each well, the plates were incubated at 37°C for 3 hours. The excess of MTT was removed and added 100 μ L of DMSO (10%) to formazan crystals

dissolution. The absorbance was measured in microplate titer at 560 nm. Doxorubicine was used as positive control (5µg/mL). The experiments were carried out in quadruplicate and inhibition percentual was calculate by software *Graphpad Prism 7.0 Demo*.

2.5.2 Cytotoxic Activity in Normal Lineages by PBMC

Cytotoxic fractions results in tumoral lineages were compared to peripheric blood mononuclear lineages cytotoxic. 10 mL of peripheric blood were obtained by venous puction and transferred to heparinized tubes. The blood was processed under Ficoll gradient (Ficoll-Paque™ Plus, GE Healthcare Life Sciences, Sweden) to the obtention of PBMCs. The cells were washed with PBS buffer and centrifuged at 3000 RPM, PBMCs layer was separated and the cells were counted in Neubauer chamber. Celular viability was evaluated by Tripzan Blue Exclusion Method, being used cells with viability superior to 98%. Experimental Protocols has Pernambuco Federal University Ethics Committee approval (CEP/UFPE 3.680.435/2019). PBMCs proliferation was induced by phytohemagglutinin in RPMI 1640 medium, supplemented with 10% (w/v) of bovine fetal serum. The cells were added at a density of 10^6 cells/well in 24 wells and incubated at 37°C/24h. The cytotoxic assay was carried out by MTT method (Mosmann, 1983). After 72h, 25 µL of MTT were added to each well, the plates were incubated at 37°C for hours. MTT excess was removed and added 100 of DMSO (10%) to formazan crystal dissolution. Absorbance was measured in microplate titer at 560 nm.

2.5.3 Hemolytic Activity in Human Erythrocytes

Most active fraction hemolytic activity was evaluated using human erythrocytes. 10 mililiters of venous blood were colected from healthy volunteers with esterilized syringes and needles and transferred to heparinized tubes. The erythrocytes were washed with saline solution (NaCl - 0,9%+ CaCl₂ – 0,1%) and centrifuged at 3500 RPM for 10 minutes. After supernatant discard, the erythrocytes were resuspended in saline solution at a concentration of 3% (v/v). Hemolytic Assay was performed in 96 wells plate where each well was filled with 100 µL of saline solution (Negative Control), 20 µL of 0,1% Triton X-100 + 80 µL of saline solution (Positive Control), 100 µL of saline solution + 100 µL of fraction to be tested (2000-61,2 µg/mL) in DMSO 10%, to each well were added 100 µL of erythrocytes suspension. The

plates were incubate under continuous agitation for 1 hour. After 1 hour of agitation, the plates were left to lay down for 1 hour. Supernatant was harvested by aspiration and absorbance was taken in microtiter plate at 560 nm (Costa-Lotufo *et al.*, 2002). The 2 independent experiments proposed were carried out in triplicate. Hemolysis percentual was calculated opposite to positive control (Triton X-100) using the following formula below. Experimental Protocols has Pernambuco Federal University Ethics Committee approval (CEP/UFPE 3.680.435/2019). The effective concentration (EC₅₀) was calculated by software *Graphpad Prism 7.0 Demo* and considered non-hemolytic those with EC₅₀ > 250µg/mL.

$$\% \text{ Hemolysis: } (\text{ABS sample} - \text{ABS negative control} / \text{ABS positive control} - \text{ABS negative control}) \times 100$$

2.6 GAS CHROMATOGRAPHY COUPLED TO MASS SPECTROMETRY (GC-MS)

Compounds from most active fraction from purification process were analysed and identified by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (Shimadzu®). For GC-MS analysis, was used a 30m X 0,25mm HP-5 capillary column (5%-Phenyl)-methylpolysiloxane and a 0,25 µm film thickness. The carrier gas was helium and the column rate flow was set to 1 mL/min⁻¹. An 1 uL aliquot of the most active extract fraction was injected in the column and the column temperature gradient was the following 150° C for 5 minutes, followed by temperature rise to 240° C at 4°C/minute and then 250° C for 15 minutes at 5°C/minute. The Mass Spectrometry Scanning was from 40 m/z to 450 m/z with total analysis time of 74 minutes. The mass spectrum interpretation was done based on National Institute Standard and Technology database which holds more than 70,000 compounds over. The compound name, molecular structure and other compounds characteristics were checked following a target from NIST Library as a basis.

3 RESULTS

3.1 BIOACTIVE METABOLITES PRODUCTION BY *Streptomyces hygroscopicus*

The fermentation process scaled up in fermentor returned an important effectiveness on crude extract production with a yield of approximately 0,26%. In comparison with data in published literature from previous works; a study carried out by More (2017) reported a yield of 29,7 mg/L of bioactive compounds, supporting our results.

3.2 ANTIFUNGAL ACTIVITY

The antifungal assay performed prior to purification demonstrated that the bioactive metabolites present in ethyl acetate crude extract from mycelial cake post-fermentation of *Streptomyces hygroscopicus* did not show any fungal inhibition. The absence of antifungal activity from mycelial cake post-fermentation metabolites is curious. However, a work developed by Kumar (2018) when studying metabolic liquid post-fermentation from *Streptomyces* sp. revealed inhibition of fungal growth by isolated compound pheny acetic acid. These results may be the explanation to our results.

3.3 PARTIAL PURIFICATION OF BIOACTIVE METABOLITES

As a partial purification process result, two main fractions were retrived from silical gel chromatographic process with only one more active (**F12**). From all harvested fractions only ethyl acetate fractions showed unique pattern and considerable content. Supporting our results it is worth to mention the work managed by Thekkangil (2020) which empolyed sílica gel purification process for the bioseparation of the bioactive compounds from *Streptomyces albidoflavus* STV1572a. Moreover, Rajaram and colleagues (2020) used different combinations of ethyl acetate and hexane to partially purify the compounds obtained from *Streptomyces olivaceus* LEP7 cultivation.

3.4 ANTIOXIDANT ACTIVITY

3.4.1 Antioxidant Activity by ABTS

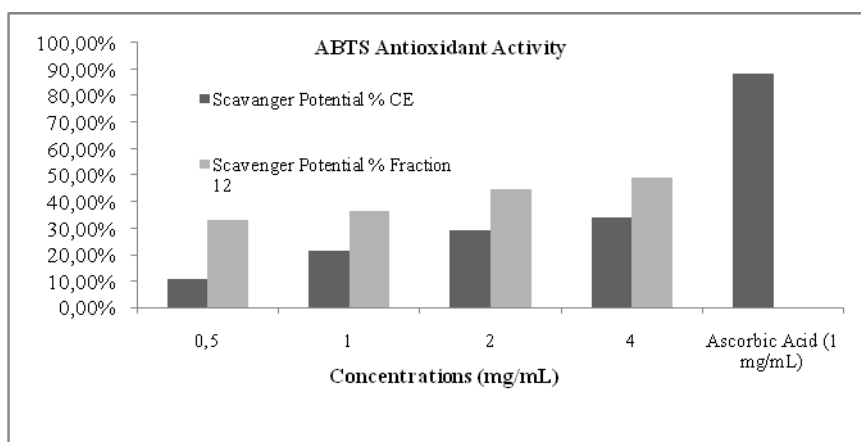


Figure 1 – Antioxidant Activity by ABTS

Our results (**Figure 1**) pointed out a good antioxidant activity from metabolites present in crude extract (CE) and most active fraction (F12), reaching a scavenger potential of 34% and 49% at 4 mg/mL, respectively. The findings of Tan *et al.* (2018) are similar to ours and reported a scavenger potential of 67,96% in ABTS method at a concentration of 5 mg/mL.

3.4.2 Antioxidant Activity by DPPH

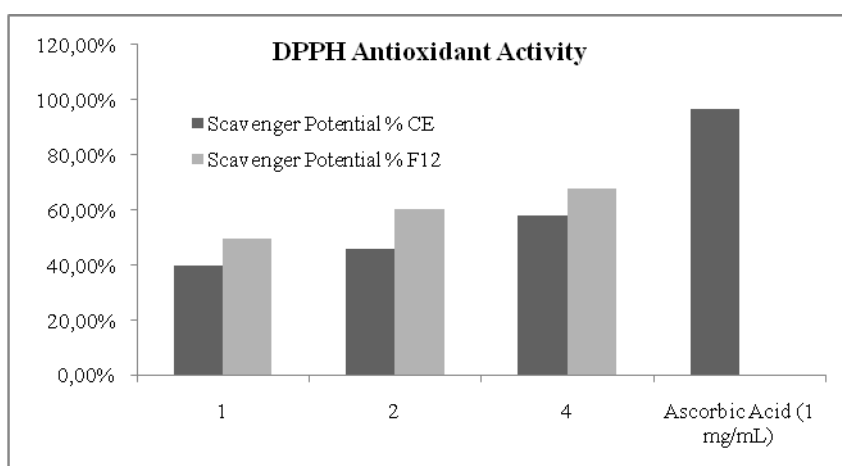


Figure 2 – Antioxidant Activity by DPPH

Despite ABTS method, DPPH is also a suitable method for antioxidant activity detection. In this work we have achieved a scavenger potential of 57% and 67% at 4 mg/mL when assayed CE and most active fraction, respectively. These results are similar to the

77,14% found by Tangjitjaroenkyn (2018) at 4 mg/mL. In contrast, Abdel-Aziz *et al.* (2019) found a scavenger potential of 14,74% and 18,74% at 10 mg/mL from metabolites imprisoned in *Streptomyces* sp. D-EGY mycelial cake.

3.4.3 Total Antioxidant Activity by Molibdate Íon

Phosphomolibdenum Assay					
Concentrations (mg/mL)	Absorbances		ug equiv		
	CE	F12	CE	F12	
0,5	0,052	0,270	5,6	58,8	
1	0,112	0,337	27,2	72,2	
2	0,137	0,440	32,2	92,8	
4	0,181	0,688	41	142,4	

Table 1 – Total Antioxidant Activity by Molibdate Íon Reduction

After molibdate íon reducing evaluation it was observed a reducing power equivalent to 41 and 142,2 ug of ascorbic acid at 4 mg/mL for crude extract and most active fraction, respectively. Compared to other works, the reduction power of our metabolites was quite good when looking at the study carried out by Rani *et al.* (2018) which observed a reducing power equivalent to 231,96 mg of ascorbic acid at 5 mg/mL from metabolites produced by *Streptomyces cellulosa* TE217. In addition, an equivalence to 83,7 mg ascorbic acid was observed from metabolites produced by *Streptomyces* OS-6 (Kaur *et al.*, 2017), sustaining the validity of our results.

3.5 CYTOTOXIC ACTIVITY

Lineages/Sample	P815	MCF-7	HCT-116	NCI-H292	PBMCs
CE	55,23±4,91	2,53±0,42	11,70±0,13	96,92±0,15	NT
F12	65,38±0,16	78,16±5,93	91,62±2,10	88,37±1,30	20,85±1,69
DOX	91,76±0,66	96,24±0,50	91,78±0,76	86,50±1,83	7,54±0,12

Table 2 – Cytotoxic Activity on Tumoral and Non-Tumoral Cell Lineages

The Table 2 shows the cytotoxic activity from ethyl acetate crude extract and most active ethyl acetate fraction (**F12**). It is important to highlight the inhibition percentage from the NCI-H292 lineage (96,92%) opposite crude extract, however, a little decay when tested most active fraction (88,37%), the possible explanation may be the synergistic action of other molecules in the crude extract, removed in the purification process. Another cancer cell lineage is noteworthy, the P815 tumoral lineage showed the following inhibition percentages 55,23% and 65,38% for crude extract and most active fraction. Comparing with other studies, Abd-Elnaby *et al.* (2016) reported that crude extract from *Streptomyces parvus* was able to inhibit cellular growth ranging from 42% to 57% of human liver cancer cell line, mouse lymphoma cell line, breast cancer cell line and human colon cancer cell line. Similarly, Shah (2016) also found a potent cytotoxic agent against human cancer colon. It is still worth to mention the work of Albo-Alkasem *et al.* (2019) which isolated a cytotoxic compound from ethyl acetate extract against breast cancer cell line and human liver cancer cell line.

3.6 HEMOLYTIC ACTIVITY IN HUMAN ERYTHROCYTES

Hemolytic results of the most active fraction (**F12**) showed an indirect hemolysis of 33% at 2 mg/mL concentration and an $EC_{50} > 250 \mu\text{g/mL}$. Based on the EC (effective concentration) parameter described in 2.5.3, it is allowed to infer that the compounds present in fraction 12 are safe wherever its aplicability. Contrastingly, the results obtained from Saruv and Kannabiran (2012) that reported the isolation of a compound from *Streptomyces* sp VITSVK5 shows a EC_{50} of $288 \mu\text{g/mL}$, what means that this compound must be used carefully.

3.7 GAS-CHROMATOGRAPHY COUPLED TO MASS SPECTROMETRY (GC-MS)

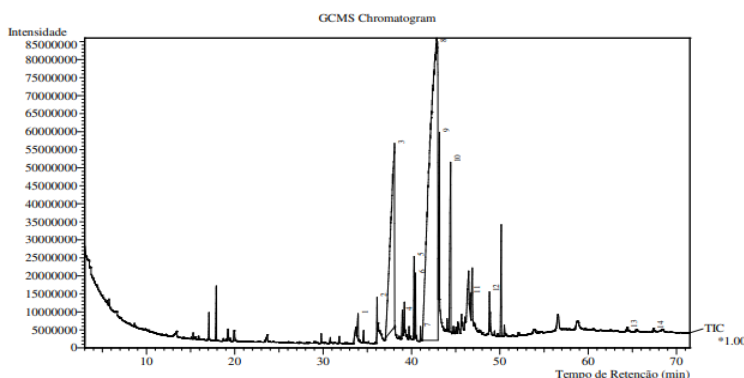


Figure 3 – Gaseous Chromatogram

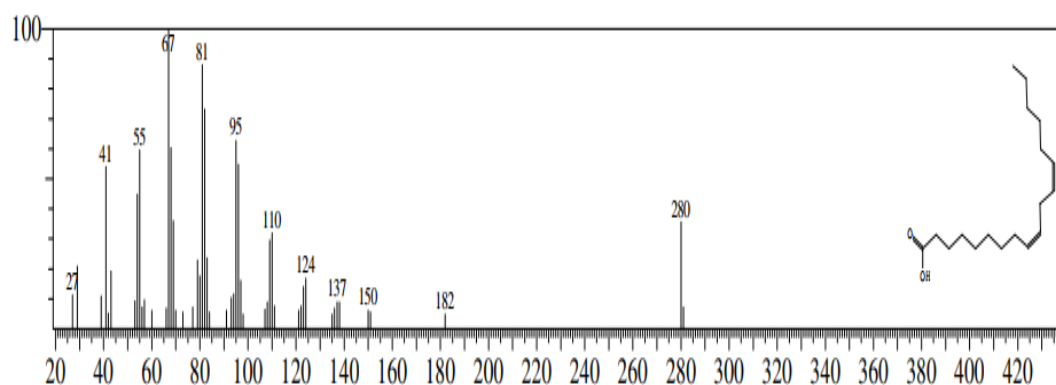


Figure 4 – Mass Spectrometer of Octadecadienoic Acid

The most active fraction (F12) GC-MS analysis returned a majoritary peak equivalent to octadecadienoic acid (67,63%) as the responsible for antioxidant, reducing, and cytotoxic properties. This carbonated compound is also reported by Abd-Elnaby (2016) from marine actinomycete *Streptomyces parvus*. In addition, Wang *et al.* (2016) reported a 20,28% peak for the octadecadienoic acid among *Streptomyces* sp. A0916 bioactive metabolites. Narendhran (2014) has reported similar compounds such as hexadecanoic acid, octadecenoic acid and pentadecanoic acid from *Streptomyces cavouresis* KU-V39 as responsible for antioxidant, reducing and cytotoxic properties. Zheng *et al.* (2019) have reported compounds like n-hexadecanoic acid and octadecanoic acid from *Streptomyces* sp. FJAT-31547 when evaluating some biological activities.

4 DISCUSSION

For many years the actinomycetes has been considered an important source of bioactive metabolites. This group of bacteria is known due to the production of a plenty kind of metabolites with a different range of action there are citations of: antimicrobial, antifungal, antitumoral, immunomodulatory and antioxidant compounds (Taechowisan *et al.*, 2017; Indupalli *et al.*, 2018; Cheng *et al.*, 2016). In the light of this fact, many authors have called them as small factories of chemicals with a singular metabolic plasticity when compared with others organisms in this field (Ravi & Krishnan 2017; Tan *et al.*, 2018). So, the aim of this work was evaluate the production of bioactive molecules by *Streptomyces hygroscopicus* through production process in fermentor and evaluate its bioactivity *in vitro*. The fermentation process has been applied with frutuous results, with good yields such as reported from previous works (More 2017). In recent years, natural bioactive compounds have received

considerable attention since they are preferable by consumers (Karadag 2016), safer (Torres-Fuentes 2015), and possesses wide range of free radicals quenching (Carocho 2014). Findings from literature show up *Streptomyces* genus as important product of compounds with antioxidant and antitumor properties (Cheng *et al.*, 2016; Indupalli *et al.* 2018; Tan *et al.* 2018).

In this work ethyl acetate crude extract from *Streptomyces hygroscopicus* was submitted to partial purification process on chromatographic column followed by compounds evaluation opposite to antitumor and antioxidant properties. Compounds with antioxidants properties have been in evidence, being frequently incorporated as: nutritional supplementation (Lui *et al.* 2018), neoplasia treatment supporters (Tugba, 2018), and cosmetic additive. The laboratorial interpretation of antioxidant tests is related to absorbance decrescim what reveals chromophore change. The presence of antioxidant activity on ABTS method is characterized by change from blue to translucid appearance and DPPH from purple to yellow, pointing radical consume and stabilization (Tan *et al.* 2018). Regarding to reducing power, it was observed reducing capacity of molybdate ion MO^{6+} to MO^{5+} under acidic pH, the reducing capacity of molybdate ion showed dependent-dosage manner observed from transformation of complex varying from light green to blue followed by absorbance increasing (Prieto *et al.* 1999). The reducing power evaluation of a compound is usable to confirm its antioxidant activity and versatile application.

The genus *Streptomyces* is mentioned in literature as important producer of antioxidant molecules with chemical structure belonging to alkaloids (Abdelmohsen *et al.* 2012), acids (Indupalli *et al.* 2018), and carbonated compounds (Wang *et al.*, 2016). The antioxidant activity observed seems to be due the carbonated compound named octadecadienoic acid observed on the most active fraction (**F12**) GC-MS analysis spectra; the hydrogen donation to radical stabilization might be according to the hydroxyl group attached to its side chain. These compounds have molecular structure formed by monocarboxylic acid attached to an alkyl chain (Nimse, 2015). Additionally, long chain carbonated compounds have showed important cytotoxic opposite to tumoral lineages *in vitro* (Honma, 2019). As matter of fact, Narendran (2014) observed that the actinomycete carbonated compound named hexadecadienoic acid has shown important cytotoxic effect on tumoral lineages. Also, hemolytic activity is a suitable method for purification and compound isolation since ensurance of its safety for further usage and application. The work managed by Sarauv and Kannabiran (2012) have reported the isolation of a compound from *Streptomyces* VITSVK5 spp., with hemolytic activity under low concentration based on its EC_{50} .

The synthesis of carbonated compounds by *Streptomyces* sp. is well-described by Arabolaza (2010). According to the author the main route is through a highly conserved system of proteins and it is not restricted to compounds production of cytoplasmic membrane but for energetic compounds. The findings of Lu *et al.* (2013) describes carbonated compounds synthesis by *Streptomyces* sp., S161 isolated from sheep feaces with starch as inductor substrate, what support our results. Interestingly, Dulermo *et al.* (2015) observed lignolytic residues bioconversion to carbonated compounds by *Streptomyces lividans* TK24.

5 CONCLUSIONS AND REMARKS

In this work, it was observed antioxidant, cytotoxic and reductor properties from metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* under fermentation process. This work is supported by other findings on literature and reinforce that *Streptomyces* spp. are a singular group of bacteria with a wide range of chemicals production.

6 SPONSORSHIP

We are thankful to Micoteca URM for fungi strains, to Elizabeth Borba for cytotoxic activities, to P rsio Silva from Chromatography Laboratory for GC-MS analysis, to Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for research funds.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ O processo de fermentação em biorreator apresentou-se eficiente na produção de moléculas bioativas dados os objetivos do presente estudo;
- ✓ O extrato em acetato de etila demonstrou potencial antioxidante, redutor e antitumoral;
- ✓ Nos testes antifúngicos qualitativos, não foi detectado inibição micelial nas cepas testadas;
- ✓ O processo de purificação demonstrou-se eficaz dados os objetivos do presente estudo, uma fração eluída por acetato de etila mostrou-se mais ativa com bioatividade considerável frente a atividade antioxidante, redutora, e citotóxica;
- ✓ Não foi detectada hemólise em eritrócitos humanos na fração testada;
- ✓ Não foi detectada citotoxicidade considerável em células normais (PBMC), apresentando sobrevivência celular superior a 75%;
- ✓ A cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas apresentou um pico majoritário de 67%, na fração mais ativa, correspondente ao ácido octadecadienoico.

REFERÊNCIAS

- ABÁN, C. L., TABOADA, G., SPEDALETTI, Y., APARICIO, M., CURTI, R. N., CASALDERREY, N. B., MAGGIO, M. E., CHOCOBAN, M. O., SALGADO, M., GALVAN, M. Z. Molecular morphological and pathogenic diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates from common bean (*Phaseolus vulgaris*) fields in Argentina. **Plant Pathology**. 2018: 67 (8): 1740-1748.
- ABD-ELNABY, H., ABO-ELALA, G., ABDEL-RAAF, U., ABD-ELWAHAB, HAMED, M. Antibacterial and anticancer activity of marine *Streptomyces parvus*: Optimization and application. **Pharmaceutical Biotechnology**. 2015: 30: 180-191.
- ABDALI, D., SAMSON, S. E., GROVER, A. K. How Effective Are Antioxidant Supplements in Obesity and Diabetes? **Medical Principles and Practice**. 2015: 24: 201–215.
- ABDEL-AZIZ, M. S., HATHOUT, A. S., EL-NELUTY, A. A., HAMED, A. A., SABRY, B. A., ALY, S. E., ABDEL-WAHAB, M. A. Molecular identification of actinomycetes with antimicrobial antioxidant and anticancer properties. **Comunicata Scientia Horticultural Journal**. 2019: 10 (2): 218-231.
- ABDELMOHSEN, U. R., AZESNY, M., OTHMAN, E. M., SCHIRMEISTER, T., GROND, S., STOPPER, H., HENTSCHEL, U. Antioxidant and Anti-Protease Activities of Diazepinomicin from the Sponge-Associated *Micromonospora* strain RV115. **Marine Drugs** 2012: 10 (10): 2208-2221.
- ADAMS, L., FRANCO, M. C., ESTEVEZ, A. G. Reactive nitrogen species in cellular signaling. **Experimental Biology and Medicine**. 2015: 240 (6): 711–717.
- AFTAB, U., SAJID, I. Antitumor peptides from *Streptomyces* sp. SS713 isolated from Arabian sea. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**. 2017: 23: 199-211.
- AGRIOS, G. N. Parasitism and Disease Development. In: **Plant Pathology**. New York, NY, USA: Academic Press. 2005: 43– 62
- AHMAD, W., IJAZ, B., SHABBIRI, K., AHMED, F., REHMAN, S. Oxidative toxicity in diabetes and Alzheimer's disease mechanisms behind ROS/RNS generation. **Journal of Biomedical Science**. 2017: 24. Article 76.
- AHMADIAN, E., EFTEKHARI, A., SAMIEI, M., DIZAJ, S. M., VINKEN, M. The role and therapeutic potential of connexins, pannexins and their channels in Parkinson's disease. **Cellular Signalling**. 2019: 58: 111-118.

AKBARIRAD, H., GOHARI ARDABILI, A., KAZEMEINI, S. M., MOUSAVI KHANEGHAH, A. An overview on some of important sources of natural antioxidants. **International Food Research Journal**. 2016: 23 (3): 928-933.

AKIMITSU, K., TSUGE, T., KODAMA, M., YAMAMOTO, M., OTANI, H. Alternaria host-selective toxins; determinant factors of plant disease. **Journal of General Plant Pathology**. 2014: 80: 109-122.

AKTARUZZAMAN, Md., AFROZ, T., LEE, Y-G., KIM, B-S. *Botrytis cinerea* is the causal agent of post-harvest grey mould rot on Green bean (*Phaseolus vulgaris*) in Korea. **Australasian Plant Disease Notes**. 2017: 12. Article 32.

ALAKONYA, A. E., KKIMUNYE, J., MAHUKU, G., AMAH, D., UWIMAMA, B., BROWN, A., SWENNEN, R. Progress in understanding *Pseudocercospora banana* pathogens and the development of resistant Musa germoplasm. **Plant Pathology**. 2018: 67 (4): 759-770.

ALBO-ALKASEM, M. I., EL-BEIH, A. A., MAZEED, T. E., MOSTAFA, E. M., AWAD, H. M., AHMED, S. A., EASA, S. M., EL-BEIH, F. M., EL-DIWANY, A. I. Piloquinone, potent cytotoxic compound from Egyptian *Streptomyces pilosus* SBG-NRC-216. **Egyptian Phamarceutial Journal**. 2019: 18 (3): 179-187.

ALI, O. M., SHAKIL, E., RANA, N. A., SARKAR, V.S., MAJUMDER, D. J., KAUSHIK, P., SINGH, B. B., KUMAR, J. Antifungal activity of nano emulsions of neem and citronella oils against phytopathogenic fungi, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. **Industrial Crops and Products**. 2017: 108: 379–387.

ALVES, E. N. T. D., MARRIEL, I. E., OLIVEIRA, C. A., COSTA, R. V., COTA, L. V., SILVA, D. D., MATTOS, B. B., VERDOLIN, A. L. G. Seleção de microrganismos antagonistas para biocontrole de *Fusarium verticillioides* na cultura do milho (*Zea mays* L.). Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2013, 26p. (Boletim técnico, 75).

ANTUNES, T. C., SALAMONI, S. P., FRAZZON, A. P. G., GERMANI, J. C., VAN DER SAND, S. T. Influência da fonte nutricional no crescimento ótimo e na produção de antimicrobianos produzidos por isolados de *Streptomyces* sp. **Revista Brasileira de Ciências**. 2013: 11 (2): 131-138.

ARABOLAZA, A., D'ANGELO, M., COMBA, S., GRAMAJO, H. FasR, a novel class of transcriptional regulator, governs the activation of fatty acid biosynthesis genes in *Streptomyces coelicolor*. **Molecular microbiology**. 2010: 78(1): 47–63.

ARAÚJO-MELO, R. O., SOUZA, I. F. A. C., VICALVI-COSTA, M. C. V., ARAÚJO, J. M., SENA, K. X. R. F. COELHO, L. C. B. B. Actinobacteria: Versatile Microorganisms with Medical and Pharmaceutical Application. **British Biotechnology Journal**. 2016: 15 (4): 1-13.

ATICI, T. Protective role of *Berberis crataegina* against Bleomycin. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**. 2018: 77(4): 1-8.

AVELINO, A. C. D., FARIA, D. A., OLIVEIRA, L. D., CERVO, Y. N., FILHO, A. S. C., FARINHA, M. A., RONDON, O. H. S., ABREU, J. G., PEIXOTO, W. M., ROSSI, M., RODRIGUES, J. Fungi Associated with major agricultural and forage crops in Integrated Systems of Brazilian Tropical Region. **Journal of Experimental Agriculture International**. 2014: 39 (5): 1-13.

BAEUROVA, K., KUCHARSKA, J., PONIST, S., SLOVAK, L., SVIK, K., JAKUS, V., MUCHOVA, J. The Role of Endogenous Antioxidants in the Treatment of Experimental Arthritis. **Antioxidants**. 2019: 1-23. doi:10.5772/intechopen.85568.

BAKER, K. F. Evolving concepts of Biological Control of Plant Pathogens. **Annual Reviews of Phytopathology**. 1983: 25: 67-85.

BAKKER, M. G., ACHARYD, J., MOORMAN, T. B., ROBERTSON, A. E., KASPAR, T. C. The potential for cereal ryes cover crops to host corn seedling pathogens. **Ecology and Epidemiology**. 2016: 106 (6): 591-601.

BARBER, S. R., KOPACH, P., GENEGA, E. M., CARROLL, T. L. Low grade spindle cell sarcoma of the true vocal folds. **Otolaryngology Reports**. 2018: 7: 13-15.

BERNHAROTT, E. S., ROSI, E. J., GESSNER, M. O. Synthetic chemicals as agents of global change. **Frontiers in Ecology and the Environment**. 2017: 15 (2): 89-90.

BETANUR, L. A., FORERO, A. M., ROMERO-OTERO, A., SEPÚLVEDA, L. Y., MORENO-SARMIENTO, L. C., RAMOS, F. A. Cyclic tetrapeptides from the marine strain *Streptomyces* sp. PNM-161 with activity against rice and yam phytopathogens. **The Journal of Antibiotics**. 2019: 72: 744-751.

BHAT, S. A., HASSAN, T., MAJID, S., ASHRAF, R., KUCHY, S. Environmental Pollution as Causative Agent for Cancer – A Review. **Cancer Clinical Research Reports**. 2017: 1 (1003): 1-8.

BI, Y., YU, Z. Diterpenoids from *Streptomyces* sp. SN194 and Their Antifungal Activity against *Botrytis cinerea*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2016: 64 (45): 8525-8529.

BIBB, M. J. Regulation of secondary metabolism in Streptomycetes. **Current Opinion in Microbiology**. 2005: 8 (2): 208-215.

BOLÍVAR-ANILLO, H. J., GARRIDO, C., COLLADO, I. G. Endophytic microorganisms for biocontrol of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinérea*. **Phytochemistry Reviews**. 2019: doi:10.1007/s11101-019-09603-5.

BORBA, C. B. A. Avaliação de Metabólito Secundário de *Streptomyces* sp., sua atividade antimicrobiana e citotoxicidade; Identificação Morfológica e Molecular da Actinobactéria. **Dissertação**. 2016. pp. 61.

BORCHI, E., BARGELLI, V., STILLITANO, F., GIORDANO, C., SEBASTIANI, M., NASSI, P. A., D'AMATI, G., CERBAI, E., NEDIANI, C. Enhanced ROS production by NADPH oxidase is correlated to changes in antioxidant enzyme activity in human heart failure. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**. 2010: 1802 (3): 331-338.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 2011: 10 (4): 221-247.

BROWN, G. C., BORUTAITE, V. There is no evidence that mitochondria are the main source of reactive oxygen species in mammalian cells. **Mitochondrion**. 2012: 12 (1): 1-4.

BRITO, A. H., VON PINHO, R. G., PEREIRA, J. L. A. R., BALESTRE, M. Controle químico da Cercosporiose, Mancha-Branca e dos Grãos Ardidos do milho. **Revista Ceres**. 2013: 60 (5): 629-635.

BUTLER, M. S. Natural products to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials. **Natural Products Reports**. 2008: 25 (3): 475-516.

CAI, X-H., JIN, J., HE, M. H. Advances in structural modifications of celasterol. **Arkivoc**. 2016: 172-182.

CARO, A. A., DAVIS, A., FOBARE, S., HORAN, N., RYAN, C., SCHWAB, C. Antioxidant and pro-oxidant mechanisms of (+) catechin in microsomal CYP2E1-dependent oxidative stress. **Toxicology in Vitro**. 2019: 54: 1-9.

CAROCHO, M., MORALES, P., FERREIRA, I. C. F. R. Natural food additives: Quo vadis? **Trends in Food Science & Technology**. 2015: 45 (2): 284–295.

CAROCHO, M., BARREIRO, M. F., MORALES, P., FERREIRA, I. C. F. R. Adding molecules to Food, pros and cons: a review of synthetic and natural food additives. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 2014: 13: 377-399.

CASTAÑO-MIQUEL, L., MAS, A., TEIXEIRA, I., SEGUI, J., PEREARNAU, A. THAMPI, B. N. SUMOylation Inhibition Mediated by Disruption of SUMO E₁-E₂ Interactions Confers

Plant Susceptibility to Necrotrophic Fungal Pathogens. **Molecular Plant**. 2017: 10 (5): 709-720.

CHEN, X., WANG, F., HYUN, J. Y., WEI, T., QIANG, J., REN, X., SHIN, I., YOON, J. Recent progress in the development of fluorescent, luminescent and colorimetric probes for detection of reactive oxygen and nitrogen species. **Chemical Society Reviews**. 2016: 45: 2976-3016.

CHEN, X., HU, L-F., HUANG, X-S., ZHAO, L-X., MIAO, C-P., CHEN, Y-W., XU, L-H., HAN, L., LI, Y-Q. Isolation and characterization of new phenazine metabolites with antifungal activity against ROOT-ROT Pathogens of *Panax notoginseng* from *Streptomyces*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2019: 67 (41): 11403-11407.

CHENG, C., OTHMAN, E. M., REIMER, A., GRÜNE, M., KOZJAK-PAVLOVIC, V., STOPPER, H., HENTSCHEL, U., ABDELMOHSEN, U. R. Ageloline A, new antioxidant and antichlamydial quinolone from the marine sponge-derived bacterium *Streptomyces* sp. SBT345. **Tetrahedron Letters**. 2016: 57 (25): 2786-2789.

CHEESEMAN, K. H., SLATER, T. F. An introduction to free radical biochemistry. **British Medical Bulletin**. 1993: 49 (3): 481-493.

COSTA-LOTUFO, L. V., CUNHA, G. M., FARIAS, P. A., VIANA, G. S., CUNHA, K. M., PESSOA, C., MORAES, M. O., SILVEIRA, E. R., GRAMOSA, N. V., RAO, V. S. The cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from *Copaifera langsdorffii* oleo-resin. **Toxicon**. 2002: 40(8): 1231–1234.

CRISTÓBAL-MARTÍNEZ, A. L., de JESUS YÁNEZ-MORALES, M., SOLANO-VIDAL, R., SEGURA-LÉON, O, HÉRNANDEZ-ANGUIANO, A. M. Diversity of *Colletotrichum* species in coffee (*Coffea arabica*) plantations in Mexico. **European Journal of Plant Pathology**. 2017: 147 (3): 605-614.

DANEESHA, M., HASIN, O., SIVAKUMAR, K. C., RAVINESH, R., NAMAN, C. B., CARMELI, S., SAJEEVAN, T. P. DNA binding and molecular dynamic studies of polycyclic tetramate macrolactams (PTM) with potential anticancer activity isolated from a sponge-associated *Streptomyces zhaozhouensis* subsp. *mycale* subsp. nov. **Marine Biotechnology**. 2019: 21: 124-137.

DEEPA, N., SREENIVASA, M. Y. Biocontrol strategies for effective management of Phytopathogenic fungi associated with cereals. **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**. 2019: 177-189.

DEMAIN, A. L., FANG, A. Emerging Concepts of Secondary Metabolism in Actinomycetes. **Actinomycetologica**. 1995: 9: 98-117.

DIEBOLD, L., CHANDEL, N. S. Mitochondrial ROS regulation of proliferating cells. **Free Radical Biology and Medicine**. 2016: 100: 86-93.

DIETZ, A., MATHEWS, J. Classification of *Streptomyces* Spore Surfaces into Five Groups. **Applied and Environmental Microbiology**. 1971: 21 (3): 527-533.

DHAKAL, D., LIM, S-K., KIM, D. H., KIM, B-G., YAMAGUCHI, T., SOHNG, J. K. Complete genome sequence of *Streptomyces peucetius* ATCC 27952, the producer of anticancer anthracyclines and diverse secondary metabolites. **Journal of Biotechnology**. 2018: 267: 50-54.

DUFRESNE, M., OUSBOURN, A. E. Definition of Tissue-Specific and General Requirements for Plant Infection in a Phytopathogenic Fungus. **Molecular Plant-Microbe Interactions**. 2001: 14 (3): 300-307.

DULERMO, T., COZE, F., VIROLLE, M-J., MÉCHIN, V., BAUMBERGER, S., FROISSARD, M. Bioconversion of agricultural lignocellulosic residues into branched-chain fatty acids using *Streptomyces lividans*. **Oils Seeds and Fat Crops Lipids**. 2016: 23 (2): 1-8.

DYSON, P. *Streptomyces*: molecular biology and biotechnology. Poole, UK. 2011 **Horizon Scientific Press**.

EL SAYED, O. H., ASKER, M. M. S., SWELIM, M. A., ABBAS, I. H., ATTWA, A. I., ELAWADY, M. E. Production of hydroxy marilone C as a bioactive compound from *Streptomyces badius*. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**. 2016: 14 (1): 161-168.

FARIA, R. S. C. A., CIA, M. C., MONTEIRO-VITORELLO, C. B., AZAVEDO, R. A., CAMARGO, L. E. A. Characterization of genes responsive to osmotic and oxidative stress of the sugarcane bacterial *Leifsonia xyli subsp. xyli*. **Brazilian Journal of Microbiology**. 2019: 51: 77-86.

FIONDA, C., ABRUZZESE, M. P., SANTONI, A., CIPPITELLI, M. Immunoregulatory and effector activities of nitric oxide and reactive nitrogen species in cancer. **Current Medicinal Chemistry**. 2016: 23 (24): 2618-2636.

FLÄRDH, K., BUTTNER, M. J. *Streptomyces* morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. **Nature Reviews Microbiology**. 2009: 7: 36-49.

FORESI, N., CORREA-ARAGUNDE, N., SANTOLINI, J., LAMATTINA, L. Analysis of the Expression and Activity of Nitric Oxide Synthase from Marine Photosynthetic Microorganisms. In: Gupta K. (eds) Plant Nitric Oxide. **Methods in Molecular Biology**. 2016: 1424, pp. 149-162. Humana Press, New York, NY.

FU, P. P., XIA, Q., SUN, X., YU, H. Phototoxicity and Environmental Transformation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)—Light-Induced Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation, and DNA Damage . **Journal of Environmental Science and Health, Part C: Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews**. 2012: 30 (1): 1-41.

FU, J., SHAO, Y., WANG, L., ZHU, Y. Lysosome-controlled efficient ROS overproduction against cancer cells with a high pH-responsive catalytic nanosystem. **Nanoscale**. 2015: 7: 7275-7283.

FUNES, C. PÉREZ-GÓMEZ, S. G., HENRIQUEZ, D. D., DiPAULI, V., BERTANI, R. P., FONTANA, D. P., RAGO, A. M., JOYA, C. M., SOPENA, R. A., GONZÁLEZ, V., BABI, H., ERAZZU, L. E., CUENYA, M. I., PLOPER, L. D. First Report of Orange Rust of Sugarcane Caused by *Puccinia kuehnii* in Argentina. **Diseases Notes**. 2016: 100 (4).

FURUKAWA, S., FUJITA, T., SCHIMABUKURO, M., IWAKI, M., YAMADA, Y., NAKAJIMA, Y., NAKAYAMA, O., MAKISHIMA, M., MATSUDA, M., SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **Journal of Clinical Investigation**. 2017: 114 (12): 1752-1761.

GAUTAM, N., SALARIA, N., THAKUR, K., KUKREJA, S., YADAV, N., YADAV, R., GOUTAM, U. Green Silver Nanoparticles for Phytopathogen Control. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**. 2020: 91: 439-446.

GREGÓRIO, B. M., SOUZA, D. B., NASCIMENTO, F. A. M., MATTA, L., FERNANDES-SANTOS, C. The Potential Role of Antioxidants in Metabolic Syndrome. **Current Pharmaceutical Design**. 2016: 22: 859-869.

GOODFELLOW, M. Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov.,” in **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 2nd Edn., eds M. Goodfellow, P. Kämpfer, H-J. Busse, M. E. Trujillo, K-I. Suzuki, W. Ludwig, and W. B. Whitman (New York, NY: Springer). 2012: 1–2083.

GORECKI, G., RUSU, E., MOLDOVAN, H., TUDORACHE, I. S. Reactive nitrogen species and cardiovascular diseases. **Romanian Journal of Military Medicine**. 2018: 122 (2): 11-15.

GUIMARÃES, D. O., MANESSO, L. S., PUPO, M. T. Antibióticos: Importância Terapêutica e Perspectivas para a Descoberta e Desenvolvimento de Novos Agentes. **Química Nova**. 2010: 33 (3): 667-679.

GUO, J-D., ZHAO, X., LI, Y., LI, G-R., LIU, X-L. Damage to dopaminergic neurons by oxidative stress in Parkinson's disease. **International Journal of Molecular Medicine**. 2018: 41 (4): 1817-1825.

HA, H. L., SHIN, H.-J., FEITELSON, M. A., YU, D.-Y. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. **World Journal of Gastroenterology**. 2010; 16 (48): 6035-6043.

HAQUE, U. Md., RAHMAN, A. Md., HAQUE, A. Md., SARKER, K. A., U. I. A. Md. Antimicrobial and Anticancer Activities of Ethyl Acetate Extract of Co-culture of *Streptomyces* sp ANAM-5 and AIAH-10 Isolated from Mangrove Forest of Sundarbans, Bangladesh. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. 2016; 6 (2): 51-55.

HALLIWELL, B. Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke? **Acta Neurologica Scandinavica**. 1989; 80: 23–33.

HALLIWELL B., GUTTERIDGE, J. M. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Radical Biology & Medicine**. 1995; 18(1): 125-126.

HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. **Biochem Soc Trans**. 2007; 35 (5): 1147-50.

HALLIWELL, B. Role of Free Radicals in the Neurodegenerative Diseases. **Drugs and Aging**. 2001; 18: 685-716.

HENKLER, F., BRINKMANN, J. LUCH, A. The Role of Oxidative Stress in Carcinogenesis Induced by Metals and Xenobiotics. **Cancers**. 2010; 2(2): 376-396.

HONMA, T., SHIRATANI, N., BANNO, Y., KATAOKA, T., KIMURA, R., SATO, I., TAKAYANAGI, T. Seeds of *Centranthus ruber* and *Valeriana officinalis* Contain Conjugated Linolenic Acids with Reported Antitumor Effects. **Journal of Oleo Science**. 2019; 68(5): 481–491.

HUANG, W.-J., ZHANG, X., CHEN, W.-W. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. **Biomedical Reports**. 2016; 4 (5): 519-522.

HUSSAIN, A., RATHER, M. A., DAR, M. S., DANGROO, N. A., AGA, M. A., QAYUM, A., SHAH, A. M., AHMAD, Z., DAR, M. J., HASSAN, Q. P. *Streptomyces puniceus* strain AS13: Production, characterization and evaluation of bioactive metabolites: A new face of dinactin as an antitumor antibiotic. **Microbiological Research**. 2018; 207: 196-202.

HWANG, K.-S., KIM, H. U., CHARUSANTI, P., PALSSON, B. O., LEE, S. Y. Systems biology and biotechnology of *Streptomyces* species for the production of secondary metabolites. **Biotechnology Advances**. 2014; 32 (2): 255-268.

IBRAHIM, N. F., MOHOL, M. H., NIK, M. I. M. N., ZAKARIA, L. Mycotoxigenic potential of *Fusarium* species associated with pineapple diseases. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**. 2020; doi: 10.1080/03235408.2020.1736971.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. INCA. 2018. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/>. Acesso em 10 de dezembro de 2019.

INDUPALLI, M., MUVVA, V., MANGAMURI, U., MUNAGANTI, R. K., NARAGANI, K. Bioactive compounds from mangrove derived rare actinobacterium *Saccharomonospora oceani* VJDS-3. **3 Biotech**. 2018: 8(2). doi:10.1007/s13205-018-1093-6.

JACKAMAN, C., TOMAY, F., DUONG, L., ABDOL-RAZAK, N. B., PIXLEY, F. J., METHARON, P., NELSON, D. J. Aging and Cancer: The role of macrophages and neutrophils. **Aging Research Reviews**. 2017: 36: 105-116.

JAIN, A. K., MEHRA, N. K., SWARNAKAR, N. K. Role of Antioxidants for the Treatment of Cardiovascular Diseases: Challenges and Opportunities. **Current Pharmaceutical Design**. 2015: 21: 4441-4455.

JAISWARA, P. K., GUPTA, V. K., RAWAT, S. G., SONKER, P., KUMA, A. Reprogramming of Tumor Associated Immune Cells by phytochemicals: In-Vitro Approaches for Cancer Treatment. **Phytochemistry: An in-Silico and in-Vitro Update**. 2019: 69-82.

JARIAL, S. THAKUR, M. SAKINAH, A.W. ZULARISAM, A. SHARAD, S. S. KANWAR, L. SINGH. Potent anticancer, antioxidant and antibacterial activities of isolated flavonoids from *Asplenium nidus*. **Journal of King Saud University – Science**. 2016: 30 (2): 185-192.

JIANG, B., ZHAO, W., LI, S., LIU, H., YU, LE., NIU, W., HE, H., WU, L. Quinoxaline, a quinoxalinone-bohemamine hybrid compound from *Streptomyces* sp. CPCC200497. **The Journal of Antibiotics**. 2018: 71: 965-967.

JODAN, N., JAIN, R. ARIBAM, N. G., CHAUHAN, P. Review-Monitoring of Endogenous Antioxidants: An Electroanalytical Approach. **Journal of Electrochemical Society**. 2017: 164 (4): 266-277.

JUGRAN, A. K., BAHUKHANDI, A., DHYANI, P., BHATT, I. D., RAWAL, R. S., & NANDI, S. K. Impact of Altitudes and Habitats on Valerenic Acid, Total Phenolics, Flavonoids, Tannins, and Antioxidant Activity of *Valeriana jatamansi*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 2016: 179 (6): 911–926. doi:10.1007/s12010-016-2039-2.

KAMINSKY, V.O., ZHIVOTOVSKY, B. Free radicals in cross talk between autophagy and apoptosis. **Antioxidants and Redox Signaling**. 2014: 21 (1): 86-102.

KARADAĞ, A., HERMUND, D. B., JENSEN, L. H. S., ANDERSEN, U., JÓNSDÓTTIR, R., KRISTINSSON, H. G., JACOBSEN, C. Oxidative stability and microstructure of 5% fish-

oil-enriched granola bars added natural antioxidants derived from brown alga *Fucus vesiculosus*. **European Journal of Lipid Science and Technology**. 2016: 119 (4): 1500578.

KASOTE, D. M., KATYARE, S. S., HEGDE, M. V., BAE, H. Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. 2015. **International Journal of Biological Sciences**. 2015: 11 (8): 982–991.

KAUR, J., MANHAS, R. K., RANI, R., ARORA, S. Actinobacteria from soil as potential free radical scavengers. **Malaysian Journal of Microbiology**. 2017: 13(3): 217-227.

KHEBIZI, N., BOUDJELLA, H., BIJANI, C., BOURAS, N., KLENK, H-P., PONT, F., MATHIEU, F., SABOCOU, N. Oligomycins A and E, major bioactive secondary metabolites produced by *Streptomyces* sp. strain HG-29 isolated from a Saharam soil. **Journal de Mycologie Médicale**. 2018: 28 (1): 150-160.

KHOJAH, H., AHMED, S., ABDEL-RAHMAN, M. S., HAMZA, A-B. Reactive oxygen and nitrogen species in patients with rheumatoid arthritis as potential biomarkers for disease activity and the role of antioxidants. **Free Radical Biology and Medicine**. 2016: 97: 285-291.

KOOLEN, H. H. F., PRAL, E. M. F., ALFIERI, S. C., MARINHO, J. V. N., SERAIN, A. F., HERNÁNDEZ-TASCO, A. J., SALVADOR, M. J. Antiprotozoal and antioxidant alkaloids from *Alternanthera littoralis*. **Phytochemistry**. 2017: 134: 106–113.

KOVAC, S., ANGELOVA, P. R., HOLMSTROM, K. M., ZHANG, Y., DINKOVA-KOSTOVA, A. T., ABRAMOV, A. Y. Nrf2 regulates ROS production by mitochondria and NADPH oxidase. **Biochimica et Biophysica Acta**. 2015: 1850 (4): 794–801.

KUMAR, P. S., YUVARAJ, P., PAURAJ, M. G., IGNACIMUTHU, S., AL-DHABI, A. N. Bio-prospecting of soil *Streptomyces* and its bioassay-guided isolation of microbial derived auxin with antifungal properties. **Journal de Mycologie Médicale**. 2018: 28 (3): 462-468.

KUSUMAWATI, I., INDRAYANTO, G. Natural Antioxidants in Cosmetics. **Studies in Natural Products Chemistry**. 2013: 40: 485–505.

LANDRY, W. D., COTTER, T. G. ROS signalling, NADPH oxidases and cancer. **Biochemical Society Transaction**. 2014: 42: 934-938.

LAW, J. W-F., SER, H-L., KHAN, T. M., CHUCH, L-H., PUSPURAJAH, P. CHAN, K-G., GOH, B-H., LEE, L-H. The Potential of *Streptomyces* as Biocontrol Agents Against the Rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* (*Pyricularia oryzae*). **Frontiers in Microbiology**. 2017: 8: 3.

LEE, I., YANG, C-M. Role of NADPH oxidase/ROS in pro-inflammatory mediators-induced airway and pulmonary diseases. **Biochemical Pharmacology**. 2012: 84 (5): 581-590.

LI, Y., LUO, H. B., ZHANG, H. Y., GUO, Q., YAO, H. C., LI, J. Q., CHANG, Q., YANG, J. G., WANG, F., WANG, C. D., YANG, X., LIU, Z. G., YE, X. Potential hepatoprotective effects of fullerenol nanoparticles on alcohol-induced oxidative stress by ROS. **RSC Advances**. 2016: 6: 31122–31130.

LIN, M., SHAN, S., LIU, P., MA, L. HUANG, L., YANG, M., LAWSON, T., WANG, Z., HUANG, Z., SHI, B., YAN, L., LIU, Y. Hydroxy-Functional Groups on Graphene Trigger the Targeted Delivery of Antitumor Drugs. **Journal of Biomedical Nanotechnology**. 2018: 14 (8): 1420-1429.

LIOTTI, R. G., FIGUEIREDO, M. I. S., SOARES, M. A. *Streptomyces griseocarneus* R132 control phytopathogens and promotes growth of peper (*Capsicum annuum*). **Biological Control**. 2019: 138: 104065.

LÍTON, Md. J. A., BHUIYAN, M. K. A., JANNAT, R., AHMED, J. V., RAHMAN, M. T., RUBAYET, M. T. Efficacy of Trichoderma-fortified compost in controlling soil-borne diseases of bush bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and sustainable crop production. **Advances in Agricultural Science**. 2019: 7 (2): 123-136.

LIU, Z., REN, Z., ZHANG, J., CHUANG, C.-C., KANDASWAMY, E., ZHOU, T., ZUO, L. Role of ROS and Nutritional Antioxidants in Human Diseases. **Frontiers in Physiology**. 2018: 9:477.

LOBO, V., PATIL, A., PHATAK, A., CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**. 2010: 4(8): 118–126.

LORENZO, J. M., PATEIRO, M., DOMÍNGUEZ, R., BARBA, F. J., PUTNIK, P., KOVAČEVIĆ, D. B., FRANCO, D. Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. **Food Research International**. 2018: 106: 1095–1104.

LU, Y., WANG, J., DENG, Z., WU, H., DENG, Q., TAN, H., CAO, L. Isolation and characterization of fatty acid methyl ester (FAME)-producing *Streptomyces* sp. S161 from sheep (*Ovis aries*) faeces. **Letters in Applied Microbiology**. 2013: 57 (3): 200-205.

LYU, A., LIU, H., CHE, H., YANG, L., ZHANG, J., WU, M., CHEN, W., LI, G. Reveromycins A and B from *Streptomyces* sp. 3-10: Antifungal Activity against Plant Pathogenic Fungi *in vitro* and in a Strawberry Food Model System. **Frontiers in Microbiology**. 2017: 8: 550.

MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., DUNLAP, P.V., CLARK, D.P. Antibiotics: isolation and characterization. In: **Brock Biology of Microorganisms**. 12th edn. Pearson Benjamin Cummings. 1301. Sansome street, San Francisco CA. 2012: 739–742.

MAJOLO, F., DELWING, L. K. O. B., MARMITT, D. J., BUSTAMANTE-FILHO, I. C., GOETTERT, M. I., Medicinal plants and bioactive natural compounds for cancer treatment: Important advances for drug discovery. **Phytochemistry Letters**. 2019: 31: 196-207.

MANTECA, A., YAGIU, P. *Streptomyces* Differentiation in Liquid Cultures as a Trigger of Secondary Metabolites. **Antibiotics**. 2018: 7 (2): 41.

MARRONE, P. G. Pesticidal natural products-status and future potential. **Pest Management Science**. 2019: 75: 2325-240.

MARSEGLIA, L., MANTI, S., D'ANGELO, G., NICOTERA, A., PARISI, E., DI ROSA, G., GITTO, E., ARRIGO, T. Oxidative Stress in Obesity: A Critical Component in Human Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**. 2015: 16 (1): 378-400.

MARTÍNEZ, M. C., ANDRIANTSITOHAINA, R. Reactive nitrogen species: molecular mechanisms and potential significance in health and disease. **Antioxidant Redox Signalling**. 2009: 11(3): 669-702.

MCCORD J. M. The Evolution of Free Radicals and Oxidative Stress. **The American Journal of Medicine**. 2001: 108(6): 652-659.

MEENA, M., GUPTA, S. K., SWAPNIL, P., ZEHRRA, A., DUBEY, M. K., UPADHYAY, R. S. Alternaria toxins: Potential virulence factors and genes related to pathogens. **Frontiers in Microbiology**. 2017: 8: 1451.

MEO, S. DI., REED, T. T., VENDITTI, P., VICTOR, V. M. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. 2016. Article ID 1245049.

MOHANDAS, G. G., KUMARASWAMY, M. Antioxidant Activities of Terpenoids from *Thuidium tamariscellum* (C. Muell.) Bosch. and Sande-Lac. a Moss. **Pharmacognosy Journal**. 2018: 10 (4): 645-649.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakar Journal of Science and Technology**. 2004: 26 (2): 211-219.

MONTENEGRO, L. Nanocarriers for skin delivery of cosmetic antioxidants. **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**. 2014: 2 (4): 73-92.

MORE, A. S., GADALKAR, S., RATHOD, V. K. Extraction of rapamycin (sirolimus) from *Streptomyces rapamycinicus* using ultrasound. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**. 2017: 47: 627-632.

MOREIRA, V. R., KURESKI, R., VEIGA, C. P. Assessment of Economic Structure of Brazilian Business. **The Scientific World Journal**. 2016. Article ID 7517806.

MOURIER A, LARSSON. N-G Tracing the Trail of Protons through Complex I of the Mitochondrial Respiratory Chain. **PLoS Biol**. 2011: 9(8): e1001129.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**. 1983: 65 (1-2): 55–63.

MUELLER, D. S., WISE, A. K., SISSON, A. J., ALLEN, T. W., BERGSTROM, G. C., BOSLEY, D. B., BRADLEY, C. A., BRODERS, K. D., BYAMUKAMA, E., CHILVERS, M. I., COLLINS, A., FASKE, T. R., FRISKOP, A. J., HEINIGER, R. W., HOLLIER, C. A., HOOKER, D. C., ISAKEIT, T., JACKSON-ZEIMS, T. A., JARDINE, D. J., KELLY, H. M., KINZER, K., KOENNING, S. R., MALVICK, D. K., McMULLEN, M., PAUL, P. A., MEYER, R. F., PAUL, P. A., ROBERTSON, A. E., SMITH, D. L., TANDE, C. A., TENUTA, A. U., VINCELLI, P., WARNER, F. Corn yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario Canada from 2012 to 2015. **Plant Health Progress**. 2016: 17: 211-222.

MUCCILLI, V., CARDULLO, N., SPATAFORA, C., CUNSOLO, V., TRINGALI, C. α -Glucosidase inhibition and antioxidant activity of an oenological commercial tannin. Extraction, fractionation and analysis by HPLC/ESI-MS/MS and ^1H NMR. **Food Chemistry**. 2017: 215: 50–60.

NAFIS, A., ELHIDAR, N., OUBAHA, B., SAMRI, S. E., NIEDERMEYER, T., OUHDOWH, Y., HASSANI, L., BARAKATE, M. Screening for non-polyenic Antifungal produced by Actinobacteria from Moroccan habitats: Assessment of Actimycin A19 production by *Streptomyces albidoflavus* AS25. **International Journal Molecular Celular and Medicine**. 2018: 7 (2): 133-145.

NARENDHRAN, S., RJIV, P., VANATHI, P., SIVARAJ, R. Spectroscopic analysis of bioactive compounds from *Streptomyces cavouresis* KUV39: Evaluation of antioxidant and Cytotoxicity Activity. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. 2014: 6 (7): 319-322.

NEWSHOLME, P., CRUZAT, V. F., KEANE, K. N., CARLESSI, R., BITTENCOURT, P. I. H. Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. **Biochemical Journal**. 2017: 473 (24): 4527-4550.

NIKI, E. Assessment of Antioxidant Capacity *in vitro* and *in vivo*. **Free Radical Biology and Medicine**. 2010: 49 (4): 503-515.

NIMSE, S. B., PALB, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advances**. 2015: 5: 27986–28006.

NIRMALA, C., BISHT, M.S., BAJWA, H.K., SANTOSH, O. Bamboo: A rich source of natural antioxidants and its applications in the food and pharmaceutical industry. **Trends in Food Science & Technology**. 2018: 77: 91-99.

NOOMUNAL, S., THASANA, N., SUNGKEEREE, P., MONGKOLSUK, S., LOPRASERT, S. Streptanoate, a new anticancer butanoate from *Streptomyces* sp. DC3. **The Journal of Antibiotics**. 2016: 69: 124-127.

NOUIOUI, I., CARRO, L., GARCÍA-LÓPEZ, M., MEIER-KOLTHOFF, J.P., WOYKE, T., KYRPIDES, N.C., PUKALL, R., KLENK, H-P., GOODFELLOW, M., GÖKER, M. Genome-Based Taxonomic Classification of the Phylum Actinobacteria. **Frontiers in Microbiology**. 2018: 9: 2007.

PADILLA, R. R., SIMAO-BEAUNOIR, A-M., LERAT, S., BERNARDS, M. A., BEAULIEU, C. Suberin Regulates the Production of Cellulolytic Enzymes in *Streptomyces scabiei*, the causal agent of potato common scab. **Microbes Environments**. 2015: 30 (3): 245-253.

PAIVA, A. C. G., ABREU, M. A. M. M., SOUZA, M. P. Undifferentiated pleomorphic sarcoma. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 2018: 93 (1): 154-155.

PAK, D., YOU, M. P., LANOISELET, V., BARBETTI, M. J. Reservoir of cultivated rice pathogens in wild Rice in Australia. **European Journal of Plant Pathology**. 2017: 147 (2): 295-319.

PAN, X., VALLET, A.L., SCHWEIZER, S., DAHBI, K., DELPECH, B., BLANCHARD, N., GRAFF, B., G, S. J., CURRAN, D. P., LALEVEE, J., LACÔTE, E. Mechanistic and preparative studies of radical chain homolytic substitution reactions of N-heterocyclic carbene boranes and disulfides. **Journal American Chemical Society**. 2013: 135: 10484–10491.

PARK, Y., NAM, S., YI, H-J., HONG, H-J., LEE, M. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids increase oxidative stress in rats with intracerebral hemorrhagic stroke. **Nutrition Research**. 2009: 29(11): 812-818.

PARNELL, J. J., BERKA, R., YOUNG, H. A., STURINO, J. M., KANG, Y., BARNHART, D. M., DiLEO, M. V. From the Lab to the Farm: an Industrial Perspective of Plant Beneficial Microorganisms. **Frontiers in Plant Science**. 2016: 7: 1110.

PATEL, V. B., HATALING, J. M. Impact of chemotherapy on subsequent generations. **Urologic Oncology**. 2020: 38 (1): 10-13.

PAUL, D., BARGALE, A. B., RAPOLE, S., SHETTY, P. K., SANTRA, M. K. Protein Phosphatase 1 regulator subunit SDS22 Inhibits Breasts Cancer cell Tumorigenesis by Functioning as a Negative Regulator of the AKT signalling pathway 1 2 3. **Neoplasia**. 2019: 21 (1): 30-40.

PENG, Y-L., FAN, J., GUO, Z., LU, Y-H., WANG, N. Welcome to phytopathology research: a new platform for sharing research advances in plant pathology. **Phytopathology Research**. 2019: 1. Article 1.

PÉREZ, M., SCHLEISSNOR, C., FERNANDÉZ, R., RODRÍGUEZ, P., REYES, F., ZUÑIGA, P., DE LA CALLE, F., CUEVAS, C. PM100117 and PM100118 new antitumor macrolides produced by a marine *Streptomyces caniforus* GUA-06-05-006^a. **The Journal of Antibiotics**. 2016: 69: 388-394.

PHAM-HUY LA, HE H, PHAM-HUY C. Free radicals, antioxidants in disease and health. **International Journal of Biomedical Sciences**. 2008:4(2):89–96.

PHANIENDRA, A. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**. 2015: 30 (1): 11–26.

PISOSCHI, A. M., POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 2015: 97: 55–74.

PLOETZ, R. The Impact of Diseases on Cacao Production. A global overview. 2016. In: Bailey B., Meinhardt L. (eds) **Cacao Diseases**. Springer, Cham. pp. 33-59.

PRIETO, P., PINEDA, M., AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**. 1999: 269 (2): 337-341.

POMMERHENE, K., WALISK, J., EBERSBACH, A., KRULL, R. The antitumor activity rebeccamycin-challenges and advanced approaches in production processes. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 2019: 103: 3627-3636.

PUCCI, C., MARTINELLI, C., CIOFANI, G. Innovative approaches for cancer treatment: current perspectives and new challenges. **Ecancer Medical Science**. 2019: 13: 961.

QIN, L., JIA, P., ZHANG, Z., Z. S. ROS-p53-cyclophilin-D signaling mediates salinomycin-induced glioma cell necrosis. **Journal of Experimental and Clinical Cancer Research**. 2015: 34: 57.

RAJARAM, S. K., AHMAD, P., KEERTHANA, S. S. S., CRESSIDA, P. J., MOORTHY, G. J., SURESH, R. S. S. Extraction and purification of an antimicrobial bioactive element from lichen associated *Streptomyces olivaceus* LEP7 against wound inhabiting microbial pathogens. **Journal of King Saud University-Science**. 2020: 32 (3): 2009-2015.

RAJNISZ, A., GUSPIEL, A., POSTEK, M., ZIEMSKA, J., LASKOWSKA, A., RABCZENKO, D., SOLECKA, J. Characterization and Optimization and Biosynthesis of Bioactive Secondary Metabolites Produced by *Streptomyces* sp. 8812. **Polish Journal of Microbiology**. 2016: 65 (1): 51-61.

RAMALINGAM, V., RAJARAM, R. Antioxidant activity of 1-hydroxy-1-norresistomycin derived from *Streptomyces variabilis* KP149559 and evaluation of its toxicity against zebra fish *Danio rerio*. **RSC Advances**. 2016: 6 (20): 16615–16623.

RANI, R., ARORA, S., KAUR, J., MANHAS, R. K. Phenolic compounds as antioxidants and chemopreventive drugs from *Streptomyces cellulosa* strain TES17 isolated from rhizosphere of *Camellia sinensis*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. 2018: 18(1): Article 82.

RAO, R. K. V., MANI, P., SATYANARAYANA, B., RAGHAVA RAO, T. Purification and structural elucidation of three bioactive compounds isolated from *Streptomyces coelicoflavus* BC 01 and their biological activity. **3 Biotech**. 2017:7 (1): 24.

RATTI, M. F., ASCUNCE, M. S., LANDIVAR, J. J., GOSS, E. M. Pineapple herat rot isolates from Ecuador reveal a new genotype of *Phytophthora nitotianae*. **Plant Pathology**. 2018: 67 (8): 1803-1813.

RAVI, L., KRISHNAN, K. Benzoyloxy-ethyl-carbamic acid: A novel anticancerous secondary metabolite produced by *Streptomyces globosus* VITLGK011. **Indian Journal of Experimental Biology**. 2017: 55: 411-420.

RAY, P. D., HUANG, B-W., TSUJI, Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. **Cellular Signalling**. 2012:64(5): 981-990.

REDZA-DUTORDOUIR, M., AVERILL-BATES, D. A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**. 2016: 1863 (12): 2977-2992.

REE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**. 1999: 26 (9-10): 1231-1237.

REIKING, O. Philippine economic plant diseases. **Philippine Journal of Science**. 1918: 13 (5): 217-224.

RIZZO, A. M., BERSELLI, P., ZAVA, S., MONTORFANO, G., NEGRONI, M., CORSETTO, P., BERRA, B. Endogenous Antioxidants and Radical Scavengers. IN: Giardini, M. T., Rea, G., Berra, B. (Eds) Bio-Farms for Nutraceuticals. 2010 **Advances in Experimental Medicine and Biology**, vol 698. Springer, Boston, MA. pp. 52–67.

ROCHETTE, N. F. G., VASCONCELOS, M. S., NABAVI, S. M., MOTA, E. F., NUNES-PINHEIRO, D. C. S., DAGLIA, M., DeMELO, D. F. Fruit as Potent Natural Antioxidants and Their Biological Effects. **Current Pharmaceutical Biotechnology**. 2016: 17: 986-993.

RUBIO, J. S. R., CARRASCAL, C. E. L., MELGAREJO, L. M. Physiological behavior of cassava plants (*Manihot esculenta* Crantz) in response to infection by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* under greenhouse conditions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. 2017: 100: 136-141.

SALAM, N., JIAO, J-Y., ZHANG, X-T., LI, W-J. Update on the classification of higher ranks in the phylum Actinobacteria. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2020: 70: 1331-1355.

SARRAFICHI, A., BAHMANI, M., SHIRZAD, H., RAFIEIAN-KOPAEI, M. Oxidative Stress and Parkinson's Disease: New Hopes in Treatment with Herbal Antioxidants. **Current Pharmaceutical Design**. 2016: 22: 238-246.

SARAU, K., KANNABIRAN, K. Cytotoxicity and antioxidant activity of 5-(2,4-dimethylbenzyl) pyrrolidin-2-one extracted from marine *Streptomyces* VITSVK5 spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**. 2012: 19: 81-86.

SCHAUR, R., SIEMS, W., BRESGEN, N., ECKL, P. 4-Hydroxy-nonenal—A Bioactive Lipid Peroxidation Product. **Biomolecules**. 2015: 5(4): 2247–2337.

SEN, A., DAUBIN, V., ABROUK, D., GIFFORD, I., BERRY, A. M., NORMAND, P. Phylogeny of the class Actinobacteria revisited in the light of complete genomes. The orders 'Frankiales' and Micrococcales should be split into coherent entities: proposal of Frankiales ord. nov., Geodermatophilales ord. nov., Acidothermales ord. nov. and Nakamurellales ord. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2014: 64: 3821-3832.

SENEVIRATNE, K. N., PRASADANI, W. C., JAYAWARDENA, B. Phenolic extracts of coconut oil cake: a potential alternative for synthetic antioxidants. **Food Science Technology**. 2016: 36 (4): 591-597.

SERNA, N., SÁNCHEZ-GARCIA, L., UNZUETA, V., DÍAZ, R., VÁZANEZ, E., MANGUS, R., VILLAVERDE, A. Protein-Based Therapeutic Killing for Cancer Therapies. **Trends in Biotechnology**. 2018: 6 (3): 318-335.

SHAH, A. M., WANI, A., QAZI, P. H., REHMAN, S., MUSHTAQ, S., ALI, S. A., HUSSAIN, A., SHAH, A., QAZI, A. K. MAKHDOOMI, U. S., HAMID, A., KUMAR, A. Isolation and characterization of alborixin from *Streptomyces scabrisporus*: A potent cytotoxic agent against human colon (HCT-116) cancer cells. **Chemico-Biological Interactions**. 2016: 256: 198-208.

SHILICHTA, J. G., GENY, M. A. C., HERNÁNDEZ-CUMPLIDO, J., TRAINER, J., BENREY, B. Contrasting consequences of plant domestication for the chemical defenses of leaves and seeds in lima bean plants. **Basic and Applied Ecology**. 2018: 31: 10-20.

SILVA, J. S.; COIMBRA, J. L.; TAVARES, D. G.; AFONSO, G. O. Inibição in vitro do crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* utilizando isolados de actinomicetos obtidos da rizosfera de plantas nativas do cerrado baiano. **Natureza on line**. 2013: 11(1): 15-19.

SILVA, M. M., LIDON, F. C. An overview on applications and side effects of antioxidant food additives. **Emirates Journal of Food and Agriculture**. 2016: 28 (12): 823-832.

SILVA, R. N., MONTEIRO, V. N., STEINDORF, A. S., GOMES, E. V., NORONHA, E. F., ULHOA, C. J. Trichoderma/pathogen/plant interaction in pre-harvest food security. **Fungal Biology**. 2019: 123: 565-583.

SOLADOYE, O. P., JUÁREZ, M. L., AALHUS, J. L., SHAND, P., ESTÉVEZ, M. Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 2015: 14 (2): 106-122.

STACKEBRANDT, E., SCHUMANN, P. Introduction to the taxonomy of Actinobacteria. In: Dworkin, M., Falkow, S., Schleifer, R. H., Stackebrandt, R.M. (eds) **The prokaryotes**. 3rd. Ed. vol 3. Archaea and Bacteria: Firmicutes, Actinomycetes. Springer. New York. 2006. pp. 297–321.

SUN, J., WEI, Q., ZHOU, Y., WANG, J., LIU, Q., XU, H. A systematic analysis of FDA-approved anticancer drugs. **BMC Systems Biology**. 2017: 11: 87.

SUPERSON, A. A., PHELAN, D., DEKOVICH, A., BATTISTUZZI, F. U. Choice of species affects phylogenetic stability of deep nodes: an empirical example in Terrabacteria. **Bioinformatics**. 2019: 35 (19): 3608-3616.

TAECHOWISAN, T., CHAISAENG, S., PHUTDHAWONG, W. S. Antibacterial, antioxidant and anticancer activities of biphenyls from *Streptomyces* sp. BO-07: an endophyte in Boesenbergiarotunda (L.) Mansf A. **Food and Agricultural Immunology**. 2017: 28:6: 1330-1346.

TAGHVAEI, M., JAFARI, S.M. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. **Journal of Food Science and Technology**. 2015: 52: 1272-1282.

TAN, L. T.-H., CHAN, K.-G., CHAN, C. K., KHAN, T. M., LEE, L.-H., GOH, B.-H. Antioxidative Potential of a *Streptomyces* sp. MUM292 Isolated from Mangrove Soil. **BioMed Research International**. 2018: 1–13.

TANGJITJAROENKYN, J. Evaluation of antioxidant, antibacterial and Gas chromatography-mass spectrometry analysis of ethyl acetate extract of *Streptomyces omiyaensis* sch2. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**. 2018: 11 (7): 271-276.

THEKKANGIL, A., SUCHITHRA, T. V. Antidermatophytic lead compounds from *Streptomyces albidoflavus* STV1572a against *Tinea* infections by *Tricophyton mentagrophytes*. **Microbial Pathogenesis**. 2020: 142: 104037.

THUY LE, T. T., THUY, T. T. V., HAI, H., KAWADA, N. Role of oxidative and nitrosative stress in hepatic fibrosis. **Liver Pathophysiology**. 2017: 213-224.

TORRES-FUENTES, C., CONTRERAS, M. DEL M., RECIO, I., ALAIZ, M., & VIOQUE, J. Identification and characterization of antioxidant peptides from chickpea protein hydrolysates. **Food Chemistry**. 2015: 180: 194–202.

TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., CASE, C. L. Microbiologia. 10^o Ed. 2012. **Artmed**. pp. 967.

TRIPATHI, D. N., WALKER, C. L. The peroxisome as a cell signaling organelle. **Current Opinion in Biology**. 2016: 39: 109-112.

TUGBA, A., ÇOLAK ALTUN, D., ÇAGLA, E. Protective effects of *Berberis crategina* DC. (Ranunculales: Berberidaceae) extract on Bleomycin-induced toxicity in fruit flies (Diptera: Drosophilidae). **Revista de La Sociedad Entomológica Argentina**. 2018: 77 (4): 1-8.

TURRENS, J. F. Superoxide Production by the Mitochondrial Respiratory Chain. **Bioscience Reports**. 1997: 17: 3-8.

ULLAH, A., KHAN, A., KHAN, I. Diabetes mellitus and oxidative stress – A concise review. **Saudi Pharmaceutical Journal**. 2016: 24 (5): 547-553.

VAN DER MEIJ, A., WORSLEY, S. F., HUTCHINGS, M. I., VAN WEZEL, G. P. Chemical Ecology of antibiotic production by actinomycetes. **FEMS Microbiology Reviews**. 2017: 41 (3): 392-416.

VAN LENTEREN, J. C., BOLEKMANS, K. KÖHL, J., RAVENSBERG, W. I., URBANEJA, A. Biological Control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **Biocontrol**. 2017: 63: 39-59.

VICHAYA, E. G., CHUI, G. S., KRUKOWSKI, K., LACOURT, T. E., KAVELLARS, A., DANTZER, R., HEIJNER, C. I., WALKER, A. K. Mechanisms of chemotherapy-induced behavioral activities. **Frontiers in Neuroscience**. 2015: 9. Article 131.

WAKSMAN, S. A., HENRICI, A. T. The Nomenclature and Classification of the Actinomycetes. **Journal of Bacteriology**. 1943: 46 (4): 337-341.

WANG, X-J., GONG, D-L., WANG, J-D., ZHANG, J., LIU, C-X., XIANG, W-S. A new quinoline derivative with cytotoxic activity from *Streptomyces* sp. neu50. **Bioorganic and Medicinal Chemical Letters**. 2011: 21 (8): 231-2315.

WANG, M., KAUFMAN, R. J. Protein misfolding in the endoplasmic reticulum as a conduit to human disease. **Nature**. 2016: 529: 326–335.

WANG, L., QIU, P., LONG, X.-F., ZHANG, S., ZENG, Z.-G., TIAN, Y.-Q.. Comparative analysis of chemical constituents, antimicrobial and antioxidant activities of ethylacetate extracts of *Polygonum cuspidatum* and its endophytic actinomycete, *Streptomyces* sp. A0916. **Chinese Journal of Natural Medicines**. 2016: 14 (2): 117–123.

WANG, C-Y, CHEN, Y-W, HOU C-Y. Antioxidant and antibacterial activity of seven predominant terpenoids. **International Journal of Food Properties**. 2019: 22: 1: 230-238.

WANG, W., ZILONG, L., LI, S., ZHANG, J., FAN, K., TAN, G., AI, G., LAM, S. M., SHUI, G., YANG, Z., LU, H., JIN, P., LI, Y., CHEN, X., XIA, X., LIU, X., DANNELLY, K. H., YANG, C., YANG, Y., ZHANG, S., ALTEROVITZ, G., XIANG, W., ZHANG, L., Harnessing the intracellular triacylglycerols for titer improvement of polyketides in *Streptomyces*. **Nature Biotechnology**. 2020: 38: 76-83.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2018. Disponível em: <https://www.who.int/>. Acesso em 10 de dezembro de 2019).

WILLIAMS, T. S., GOODFELLOW, M., ALDERSON, G. Genus *Streptomyces* Waksman and Henrici. In: Williams, M. E., Holt, J. G. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 1989. Williams and Wilkins, London.

www.pestoulook.com (Acesso em 10 de dezembro de 2019).

WINNE, J., MADDER, A. Synthetic biomolecules: from blind watchmakers to synthetic biologists. **Current Opinion in Chemical Biology**. 2019: 52: A3-A5.

XU, C., WAN, X., XU, L., WENG, H., YAN, M., MIAO, M., SUN, Y., XU, G., DOOLEY, S., LI, Y., YU, C. Xanthine oxidase in non-alcoholic fatty liver disease and hyperuricemia: One stone hits two birds. **Journal of Hepatology**. 2015: 62 (6): 1412-1419.

YAKOUB, B., A. R., ABDEHEDI, O., JRIDI, M., ELFALLEH, W., NASRI, M., & FERCHICHI, A. Flavonoids, phenols, antioxidant, and antimicrobial activities in various extracts from Tossa jute leave (*Corchorus olitorus* L.). **Industrial Crops and Products**. 2018: 118: 206–213.

YANG, X., PENG, T., YANG, Y., LI, W., XIONG, J., ZHAO, L., DING, Z. Antimicrobial and antioxidant activities of a new benzamide from endophytic *Streptomyces* sp. YIM 67086. **Natural Product Research**. 2015: 29 (4): 331-335.

YANG, Y., ZHANG, S., LI, K. Antagonistic activity and mechanism of an isolated *Streptomyces corchorusii* AUH-1 against phytopathogenic fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 2019: 35: 145.

YIN, T-P, CAI, L., XING, Y., YU J., LI, X-J, MEI, R-F, DING, Z-T. Alkaloids with antioxidant activities from *Aconitum handelianum*. **Journal of Asian Natural Products Research**. 2016: 18:6: 603-610.

ZAKNUN, D., SCHROECKSNADEL, S., KURZ, K., & FUCHS, D. Potential Role of Antioxidant Food Supplements, Preservatives and Colorants in the Pathogenesis of Allergy and Asthma. **International Archives of Allergy and Immunology**. 2012: 157 (2): 113–124.

ZHANG, M., WHANG, D., GENG, Z., LI, P., SUN, Z., XU, W. Effect of heat shock protein 90 against ROS-induced phospholipid oxidation. **Food Chemistry**. 2018: 240: 642-647.

ZHANG, W. J. Global pesticide use: profile trend: cost/benefit and more. **Proccedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences**. 2018: 8 (1): 1-27.

ZHENG, X., WANG, J., CHEN, Z., ZHANG, H., WANG, Z., ZHU, Y., LIU, B. A *Streptomyces* sp strain: Isolation, identification and potential as a biocontrol agent agains soilborne diseases of tomato plants. **Biological Control**. 2019: 136: 104004.

ZHOU, H., YANG, Y., PENG, T., LI, W., ZHAO, L., XU, L., DING, Z. Metabolites of *Streptomyces* sp., an endophytic actinomycete from *Alpinia oxyphylla*. **Natural Product Research**. 2014: 28 (4): 265–267.

ZUKOWSKI, P., MACIEJCZYK, M., WASZKIEL, D. Sources of free radicals and oxidative stress in the oral cavity. **Archives of Oral Biology**. 2018: 92: 8-17.