



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARIA GABRIELA CUNHA GUIMARÃES

**PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS A ESPONJAS DO PARQUE ESTADUAL
MARINHO BANCO DO ÁLVARO COM POTENCIAL ANTICÂNCER**

FORTALEZA

2026

MARIA GABRIELA CUNHA GUIMARÃES

PROSPECÇÃO DE EXTRATOS DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS A ESPONJAS DO PARQUE
ESTADUAL MARINHO BANCO DO ÁLVARO COM POTENCIAL ANTICÂNCER

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Biologia. Área de concentração: Biotecnologia Aplicada à Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Diego Veras Wilke

Coorientador: Profa. Dra. Larissa Alves Guimarães

FORTALEZA

2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G979p Guimarães, Maria Gabriela Cunha.
Prospecção de bactérias associadas a esponjas do Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro com potencial anticâncer / Maria Gabriela Cunha Guimarães. – 2026.
74 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2026.

Orientação: Prof. Dr. Diego Veras Wilke.

Coorientação: Profa. Dra. Larissa Alves Guimarães.

1. Citotoxicidade. 2. Produtos naturais marinhos. 3. *Cinachyrella kuekenthali*. 4. *Clathria nicoleae*. 5. *Coelocarteria amadoi*. I. Título.

CDD 570

MARIA GABRIELA CUNHA GUIMARÃES

PROSPECÇÃO DE EXTRATOS DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS A ESPONJAS MARINHAS
DO PARQUE ESTADUAL MARINHO BANCO DO ÁLVARO COM POTENCIAL
ANTICÂNCER

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Biologia. Área de concentração: Biotecnologia Aplicada à Saúde.

Aprovada em: 19/01/2026.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Diego Veras Wilke (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Larissa Alves Guimarães (Coorientadora)
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Profa. Dra. Denise Cavalcante Hissa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Alexia Nathália Brígido Assef
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus intercessores no céu, Vovô, Tio
Gilson e Tio Sérgio.

A minha família que sempre me apoiou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus e à minha família pelo amor incondicional e pelo apoio sem medidas. Devo tudo a vocês.

Ao meu futuro esposo, que também é minha família, obrigada por tanto amor, carinho e paciência. Você sempre foi meu consolo favorito para dias difíceis e meu melhor amigo. Ansiosa para dividir a vida contigo. Te amo muito.

Ao **Prof. Dr. Diego Veras Wilke**, pela excelente orientação, pelos ensinamentos e pelo tempo dedicado à minha formação e ao meu crescimento profissional.

À **Profa. Dra. Larissa Alves Guimarães**, agradeço pela coorientação, pelos ensinamentos e por ter confiado a pesquisa a mim.

Agradeço especialmente à **Divisão de Geologia Marinha (DIGEOM) do Serviço Geológico do Brasil (SGB)**, pela organização e realização das atividades de coleta durante a expedição PROAMAZONAS I. Agradeço também ao **Navio de Pesquisa Hidroceanográfico Vital de Oliveira**, ao seu comandante e a toda a tripulação pelo suporte e dedicação durante as operações de pesquisa. Sem o trabalho conjunto dessa equipe, a realização desta pesquisa não teria sido possível.

Agradeço aos membros da equipe da Profa. Dra. **Sula Sulani** pela dedicação e esforços para identificação das esponjas.

Agradeço à equipe do **LAFIPLAM** por ter oferecido equipamentos e espaço para a extração.

A todos os membros do **LaBBMar**, em especial ao Ma. Yuri Silva, pela valiosa e indispensável contribuição, pelos ensinamentos e pela amizade.

Às doutoras participantes da banca examinadora **Profa. Dra. Denise Cavalcante Hissa** e **Dra. Aléxia Nathália Brígido Assef** pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Por fim, agradeço a todos que cruzaram meu caminho de alguma forma nessa caminhada e contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

“O oceano começa onde termina o conhecimento humano, e cada profundidade revela um mundo que desafia a imaginação e a ciência.” (Jules Verne, 1870).

RESUMO

O câncer é uma doença caracterizada, principalmente, pela proliferação celular descontrolada, invasão tecidual e metástase. Responsável por, aproximadamente, 12 milhões de mortes por ano, é a segunda causa principal de óbitos do mundo, sendo o câncer de mama mais incidente no Brasil, seguido do câncer de próstata e do câncer colorretal. Assim, o desenvolvimento de novas terapias anticâncer é crucial para a mitigação dessa enfermidade. Nesse sentido, a busca por produtos naturais marinhos vem ganhando cada vez mais notoriedade e relevância no que tange a produção de novos fármacos antitumorais. As esponjas marinhas se destacam por fazerem parte do grupo de invertebrados marinhos predominante nas pesquisas de bioprospecção. Na literatura há relatos de diversos compostos biologicamente ativos isolados desses animais, tais como alcalóides, ácidos graxos, esteróides, terpenóides, entre outros, exibindo atividade citotóxica. Contudo, acredita-se que a maioria dessas moléculas são produzidas por microrganismos associados. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo investigar o potencial anticâncer de moléculas produzidas por bactérias associadas às esponjas marinhas do Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro no estado do Maranhão. Foram coletadas três espécies de poríferos na costa do Maranhão, posteriormente identificadas como *Clathria nicoleae*, *Cinachyrella kuekenthali* e *Coelocarteria amadoi*, e processadas em laboratório para isolamento de microrganismos utilizando os meios de cultura sólidos contendo apenas ágar e água do mar (SWA) ou ágar, amido, caseína e extrato de levedura (SCA) suplementados com cicloheximida. Foi observado crescimento bacteriano apenas no meio SCA, resultando em oito cepas isoladas, sendo 6 de *C. kuekenthali*, 1 de *C. nicoleae* e 1 de *C. amadoi*. Em seguida, foram submetidas à extração orgânica em acetato de etila. Quatro extratos de *Cinachyrella kuekenthali* foram submetidos ao ensaio de sulforrodamina B (SRB) para avaliação da atividade antiproliferativa em células da linhagem tumoral de câncer colorretal humano HCT-116 a 50 µg/mL após 72 h de incubação. Todos os 4 extratos testados inibiram aproximadamente 100% do crescimento das células tumorais. Dessa forma, os resultados obtidos neste trabalho são promissores podendo servir como fonte de investigações futuras sobre os compostos bioativos, de modo a contribuir para pesquisas de prospecção de fármacos anticâncer.

Palavras-chave: Citotoxicidade, Produtos Naturais Marinhos, *Clathria nicoleae*, *Cinachyrella kuekenthali* e *Coelocarteria amadoi*.

ABSTRACT

Cancer is a disease characterized primarily by uncontrolled cell proliferation, tissue invasion, and metastasis. Responsible for approximately 12 million deaths per year, it is the second leading cause of death worldwide, with breast cancer being the most common in Brazil, followed by prostate and colorectal cancer. Therefore, the development of new anticancer therapies is crucial for mitigating this disease. In this sense, the search for marine natural products is gaining increasing notoriety and relevance in the production of new antitumor drugs. Marine sponges stand out as the predominant group between the marine invertebrates in bioprospecting research. The literature reports various biologically active compounds isolated from these animals, such as alkaloids, fatty acids, steroids, terpenoids, among others, exhibiting cytotoxic activity. However, it is believed that most of these molecules are produced by associated microorganisms. Given this, the present study aimed to investigate the anticancer potential of molecules produced by bacteria associated with marine sponges from the Banco do Álvaro Marine State Park in the state of Maranhão. Three species of sponges were collected off the coast of Maranhão, later identified as *Clathria nicoleae*, *Cinachyrella kuekenthali* and *Coelocarteria amadoi*. Specimens were processed for microorganism isolation using solid culture media containing sea water and agar (SWA) or sea water, starch, casein and yeast extract and ágar (SCA) supplemented with cycloheximide. Bacterial growth was observed only in medium SCA, resulting in eight isolated strains: six of *C. kuekenthali*, one of *C. nicoleae*, and one of *C. amadoi*. These were then subjected to organic extraction using ethyl acetate. Four extracts of *C. kuekenthali* were subjected to the sulforhodamine B (SRB) assay to evaluate their antiproliferative activity on the human colorectal cancer cell line HCT-116 at 50 µg/mL during 72 h incubation. All four extracts analyzed showed approximately 100% growth inhibition. The results obtained in this work are promising, potentially serving as a source for future investigations into bioactive compounds, thus contributing to research on anticancer drugs.

Keywords: Citotoxicity, Marine Natural Products, *Clathria nicoleae*, *Cinachyrella kuekenthali* and *Coelocarteria amadoi*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - “Hallmarks” do câncer	17
Figura 2 - Mapa ilustrativo da Amazônia Azul.....	23
Figura 3 - Mapa mundial destacando o Brasil e sua Zona Econômica Exclusiva (ZEE).	24
Figura 4 - Representação esquemática das etapas do planejamento experimental.....	31
Figura 5 - Localização do Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro.....	32
Figura 6 - Esponjas armazenadas em Saco para Amostra Nasco após coleta.....	32
Figura 7 - Trituração inicial da esponja <i>Coelocartheria amadoi</i> . com tesoura e pinça autoclavadas.....	35
Figura 8 - Fotos das placas das cepas isoladas.....	40
Figura 9 - Avaliação da inibição do crescimento celular promovida pelos extratos bacterianos associadas à esponja <i>Cinachyrella kuekenthali</i> , através do método de SRB.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Nomenclatura do código das amostras de esponjas.....	33
Tabela 2	- Nomenclatura do código das cepas isoladas.....	35
Tabela 3	- Código da placa de cultura e fonte do isolamento (esponja de origem) correspondente à cepa BRA-XXX.....	39
Tabela 4	- Massa dos extratos orgânicos obtidos das cepas escolhidas para o ensaio de SRB.....	42
	.	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de Etila
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AMP	Área Marinha Protegida
ATP	Adenosina Trifosfato
BIOMAR	Biotecnologia Marinha
BOD	Demanda Bioquímica de Oxigênio
CCL	Câncer Colorretal
CGen	Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
CI50	Concentração Inibitória Média
CL50	Concentração Letal Média
CIRM	Comissão Interministerial para os Recursos do Mar
CIT	Concentração Inibitória Total
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
EPA	Environmental Protection Agency (Agência de Proteção Ambiental)
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration (Administração de Alimentos e Medicamentos)
HIV-1	Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1
HPV	Papilomavírus Humano
GLOBOCAN	Global Cancer Observatory (Observatório Global de Câncer)
IARC	International Agency for Research on Câncer (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer)
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
INCA	Instituto Nacional de Câncer (Brasil)
LabbMar	Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia Marinha
LAFIPLAM	Laboratório de Análise Fitoquímica de Plantas Medicinais
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
NM	nanômetro

NPDM	Núcleo de Pesquisas e Desenvolvimento de Medicamentos
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Phosphate Buffered Saline (Solução Salina Tamponada com Fosfato)
Petrobras	Petróleo Brasileiro S/A
PNM	Produto Natural Marinho
PROARQUIPÉLAGO	Programa de Pesquisas Científicas no Arquipélago de São Pedro e São Paulo
PROTRINDADE	Programa de Pesquisas Científicas na Ilha da Trindade
RAS	Rat Sarcoma (Sarcoma de Rato)
RB	Retinoblastoma
REVIMAR	Avaliação e Monitoramento da Biodiversidade Marinha
RPM	Repetições por Minuto
SGB	Serviço Geológico do Brasil
SRB	Sulforodamina B
SWA	Sea Water Agar (Água do Mar Ágar)
TCA	Ácido Tricloroacético
TGF- β	Transformation Growth Factor beta (Fator de Crescimento Transformador beta)
UFC	Universidade Federal do Ceará
UnDF	Universidade do Distrito Federal
UNESCO	Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura
ZEE	Zona Econômica Exclusiva

LISTA DE SÍMBOLOS

% Porcentagem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Câncer.....	16
1.2. Prospecção de Produtos Naturais Marinhos	20
1.3. Amazônia Azul.....	22
1.4. Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro	24
1.5. Bactérias associadas a esponjas marinhas	25
2. JUSTIFICATIVA	29
3. OBJETIVOS	30
4. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1. Planejamento Experimental.....	30
4.2. Coleta do material.....	31
4.3. Identificação das esponjas	33
4.4. Meios de cultura	34
4.5. Processamento das amostras.....	34
4.6. Isolamento dos microrganismos associados	36
4.7. Criopreservação dos microrganismos.....	36
4.8. Obtenção dos extratos orgânicos	37
4.9. Cultivo da linhagem tumoral	37
4.10. Avaliação da atividade citotóxica in vitro	38
4.11. Análise dos dados	38
5. RESULTADOS	39
5.1. Isolamento das colônias bacterianas.....	39
5.1.1. Aspectos morfológicos das cepas isoladas	40
5.2. Massa dos extratos orgânicos	41
5.3. Avaliação da atividade citotóxica in vitro	42
6. DISCUSSÃO	43
7. CONCLUSÃO	50
8. REFERÊNCIAS	50

1. INTRODUÇÃO

1.1. Câncer

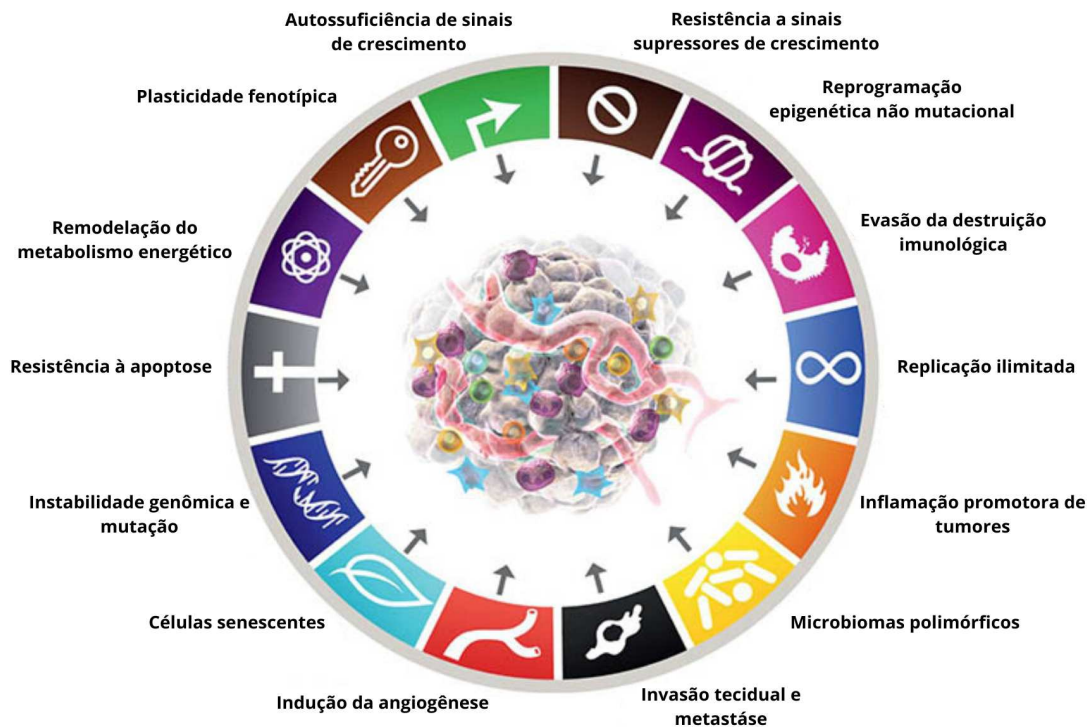
O câncer é uma enfermidade que tem como característica a proliferação desordenada de células transformadas que podem invadir outras regiões do corpo formando metástases. Em condições normais, as células crescem, se multiplicam e morrem quando meia-vida termina ou quando há a detecção de alguma anormalidade. Entretanto, devido a mecanismos mutacionais genéticos e epigenéticos, células defeituosas podem se proliferar formando tumores malignos (câncer) ou podem permanecer localmente, formando massas benignas (Brown *et al.*, 2023).

O câncer é um problema de saúde pública mundial em que, aproximadamente, 12 milhões de mortes são estimadas por ano (GLOBOCAN, 2018). É o segundo maior responsável pela mortalidade globalmente, ficando atrás apenas de doenças cardiovasculares, e a maioria das mortes ocorre em países de baixa e média renda, sendo o câncer de pulmão o líder nas estatísticas de incidência e de mortalidade por câncer no mundo (GLOBOCAN, 2012; Organização Mundial da Saúde, 2025). Enquanto que o câncer colorretal (CCR) é a terceira neoplasia mais comum e a segunda maior causa de morte mundial por câncer, com 900 mil óbitos anualmente (IARC, 2025). Nos últimos dez anos, a incidência de câncer no Brasil aumentou em 20% e estima-se que surjam mais de 5 milhões de novos casos até 2030, com o câncer de mama feminino e o de próstata como os mais frequentes (Santos *et al.*, 2023). Segundo o DATASUS, em 2024 houve o registro de mais de 630 mil casos no país, com mais de 140 mil casos na Região Nordeste.

Em 2000, Hanahan e Weinberg publicaram sobre os “*Hallmarks*” do câncer, reunindo as características das neoplasias. A publicação determina que a carcinogênese, que tem origem monoclonal, é decorrente do acúmulo de mutações no genoma que transforma uma célula normal em uma célula com características de independência de fatores de crescimento, resistência aos sinais inibidores de crescimento, capacidade de replicação ilimitada, evasão da apoptose (morte celular programada), angiogênese induzida e habilidade de invadir e gerar metástases em outros tecidos, penetrando e colonizando regiões distintas do sítio primário, uma das principais distinções entre câncer e tumores benignos (Hanahan; Weinberg, 2000; Kumar; Abbas; Aster, 2010). No ano de 2011, os autores escreveram uma atualização e adicionaram propriedades habilitadoras e emergentes do câncer, tais como a instabilidade genômica e mutação, a capacidade de promover a inflamação, a remodelação do metabolismo energético

da célula tumoral e o escape à erradicação promovida pelo sistema imunológico do hospedeiro (Hanahan; Weinberg, 2011). A mais recente atualização, em 2022, trouxe a descrição de novas descobertas fundamentais para o desenvolvimento da tumorigênese. Hanahan propôs que, além das características mencionadas, o câncer possui a habilidade de plasticidade fenotípica, ou seja, as células malignas se adaptam para um fenótipo favorável à propagação, e reprogramação epigenética não mutacional, além da importância do microbioma polimórfico presente no organismo que pode contribuir para a tumorigênese e a presença das células senescentes como vantagem para o microambiente tumoral (Figura 1) (Hanahan, 2022).

Figura 1: “Hallmarks” do câncer.



Fonte: Traduzido de Hanahan & Weinberg (2022).

Os tumores malignos possuem a capacidade de crescimento e proliferação sem a necessidade de outros estímulos, em geral, através da ativação de oncogenes, diferente das células normais que utilizam sinais promotores de crescimento externos para replicação. Esses genes são gerados por mutações nos proto-oncogenes e seus produtos são chamados de oncoproteínas, como o oncogene RAS que promove a regulação da proliferação. Outro mecanismo da tumorigênese é o escape à inibição de crescimento pelos genes supressores de tumor, como o gene TP53, ou a sua proteína p53 e o gene RB (retinoblastoma). A p53 normal interrompe o ciclo celular na fase G1 em resposta ao dano ao DNA por meio de três

mecanismos: interrupção temporária do ciclo celular (quiescência), ativação da apoptose, ou interrupção permanente do ciclo celular (senescência). Entretanto, mutações nesse gene provocam o não reparo ao DNA e, conseqüentemente, o acúmulo de mutações, a chave central para a transformação maligna. Enquanto que o gene RB é responsável por realizar a transdução de sinais inibidores de crescimento gerados, principalmente, por estímulos extracelulares quando há a detecção de anormalidades. Células cancerígenas com RB defeituoso podem se proliferar continuamente. Além disso, as células tumorais são capazes de multiplicação ilimitada através do aumento dos níveis da enzima telomerase, que substitui as extremidades perdidas do telômero a cada divisão celular, permitindo uma replicação contínua sem o encurtamento da região, como acontece em células normais. Já a evasão da apoptose ocorre por meio de alterações nos genes regulatórios, como a ativação da proteína anti-apoptótica BCL 2 que inativa as proteínas pró-apoptóticas BAX e BAK. Ademais, a angiogênese, ou seja, a formação de novos vasos sanguíneos, é continuada para garantir o fornecimento de nutrientes e oxigênio para o tumor (Kumar; Abbas; Aster, 2010).

90% das mortes por câncer ocorrem devido à invasão e metástase de outros tecidos, com a exceção dos carcinomas basocelulares, a disseminação pelas cavidades corporais, pelos vasos linfáticos ou pelos vasos sanguíneos é identificada na maioria das neoplasias malignas (Kumar; Abbas; Aster, 2010; Marques *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2025). A instabilidade dos genótipos mutantes é caracterizada pelos defeitos nos mecanismos de reparo e na manutenção do genoma e pela desordem no número de cópias do gene e da sequência de nucleotídeos que desencadeiam a progressão tumoral. A inflamação promovida pelo tumor libera substâncias químicas capazes de promover mutações adicionais nas células cancerígenas vizinhas, contribuindo para a evolução da malignidade. As células tumorais podem alterar seu metabolismo energético para realizar a glicólise aeróbica mesmo na presença de oxigênio (“efeito Warburg”), apesar de menos eficiente, essa via origina precursores intermediários importantes para o metabolismo do câncer, ativando oncogenes e genes supressores de tumor mutados (Warburg, 1930, 1956, 1956; DeBerardinis *et al.*, 2008; Jones; Thompson, 2009; Hanahan; Weinberg, 2011).

Os mecanismos de evasão da defesa imunológica podem ser variados, por exemplo, células cancerígenas podem secretar fatores imunossupressores, como o TGF- β , ou recrutar células inflamatórias imunossupressoras que anulam o potencial citotóxico do sistema imune (Yang *et al.*, 2010; Shields *et al.*, 2010; Mougiakakos *et al.*, 2010; Ostrand-Rosenberg; Sinha, 2009; Hanahan; Weinberg, 2011). O tumor se beneficia da plasticidade fenotípica de forma a transformar o seu estado para um mais favorável à disseminação, podendo interromper o processo de diferenciação, retornar a uma condição similar à da célula progenitora, ou realizar

a transdiferenciação, que é a mudança para um tipo celular distinto ao de origem. As células tumorais também são capazes de alterar a expressão gênica independente de mutações no DNA, permitindo a aquisição de características adaptativas ao ambiente. O microbioma polimórfico pode facilitar o desenvolvimento da carcinogênese através da síntese de produtos genotóxicos, da ativação de vias oncogênicas, como o Papilomavírus Humano (HPV) de alto risco que está associado ao câncer cervical, por exemplo, e da resistência às terapias anti-câncer (Boldeanu *et al.*, 2024; Hanahan; 2022). Por fim, as células senescentes realizam um papel fundamental no microambiente tumoral, secretando substâncias que influenciam a progressão maligna e a resposta a tratamentos (Hanahan; 2022; Licciulli, 2022).

Assim, os mecanismos mencionados que caracterizam a transformação maligna, aliados ao caráter epidemiológico do câncer como a segunda maior causa de mortalidade do mundo, evidenciam a necessidade de pesquisas para o tratamento e mitigação dessa doença.

Até a década de 50, apenas a cirurgia era indicada como tratamento para o câncer, todavia, após avanços na Medicina e na Ciência Oncológica, além do procedimento cirúrgico, atualmente são utilizadas radioterapia, imunoterapia, quimioterapia, terapia gênica e terapia hormonal (Abbas; Rehman, 2018).

A cirurgia é uma das opções mais indicadas quando o tumor se encontra no estágio inicial, ela garante a remoção da malignidade com uma menor agressão aos tecidos quando comparada com a quimioterapia e a radioterapia (Abbas; Rehman, 2018). A radioterapia usa partículas físicas para destruir células cancerosas, como íons, elétrons e prótons, que emitem radiações de alta energia, bloqueando a divisão celular, porém, também danifica células normais no processo (Goldblum; Weiss; Folpe, 2013). A quimioterapia surgiu no início do século XX e tem como princípio a produção de espécies reativas de oxigênio que causam genotoxicidade (dano ao material genético) e citotoxicidade (destruição de células) em células tumorais (DeVita, Chu, 2008). Porém, as células normais do indivíduo também podem ser afetadas pelos medicamentos quimioterápicos por apresentarem os mesmos receptores de células cancerígenas, principal alvo da ação dos fármacos. Como resultado, diversos pacientes relatam efeitos colaterais, como náuseas, vômito, fadiga, alopecia (queda de cabelo) e o sistema imunológico se torna imunocomprometido, sendo propício a infecções, além da alta probabilidade de surgir tumores secundários (Aslam *et al.*, 2014; Rodgers *et al.*, 2012). A terapia hormonal utiliza esteróides para tratar linfoma, leucemias e mieloma múltiplo sem citotoxicidade e pode ser uma grande aliada para a redução dos efeitos gerados pela quimioterapia. A terapia gênica permite a introdução *in situ* de genes exógenos nos tumores que causam danos às células neoplásicas. Por fim, a imunoterapia é uma das técnicas mais

avançadas e modernas de tratamento e consiste na manipulação do sistema imunológico com o objetivo de matar células malignas. Os tratamentos possuem ótimos resultados quando trabalhados em conjunto, ou seja, quando há uma abordagem multidisciplinar, por exemplo, a radioterapia pode reduzir o tamanho do tumor para ser retirado cirurgicamente e a hormonioterapia pode reduzir os efeitos adversos da quimioterapia (Abbas; Rehman, 2018).

Como mencionado anteriormente, apesar de demonstrarem eficácia para alguns casos de câncer, os efeitos adversos e colaterais das terapias anticâncer ainda são significativos e constituem uma grande problemática. Os antibióticos antraciclina atingem enzimas de replicação do DNA, porém, podem causar malefícios irreversíveis ao coração, como insuficiência cardíaca. Inibidores mitóticos bloqueiam a divisão celular, principalmente a mitose e, como consequência, geram danos aos nervos periféricos (Abbas; Rehman, 2018). Agentes alquilantes são utilizados para o tratamento de linfoma, leucemia, mieloma múltiplo e sarcomas causando dano direto ao DNA, mas podem causar danos à medula óssea e a longo prazo podem resultar em leucemia aguda (Esteller *et al.*, 2000). Dessa forma, é crucial o desenvolvimento de novos fármacos terapêuticos para a diminuição dos efeitos adversos e da mortalidade associada ao câncer. Por se tratar de um ambiente ainda considerado pouco explorado para esses fins e pela sua complexidade biológica e química, o oceano se destaca como uma fonte promissora de produtos naturais adequados ao desenvolvimento de novas moléculas anticâncer (Harvey, 2007; Alves *et al.*, 2018; Alves; Diederich 2021; Jimenez *et al.*, 2019).

1.2. Prospecção de Produtos Naturais Marinhos

Produtos Naturais Marinhos (PNMs) são definidos como moléculas que pertencem às classes de policetídeos, terpenóides, alcalóides, entre outras, que são metabólitos secundários produzidos por organismos marinhos com potente atividade biológica (Bernardi *et al.*, 2020; Alves; Diederich, 2021). Os metabólitos secundários são derivados do metabolismo primário e possuem a função de contribuir para a adaptação dos indivíduos que os produzem, tais como bactérias, cianobactérias, fungos, dinoflagelados, algas e invertebrados marinhos. Essas substâncias apresentam uma complexidade química estrutural diferente de compostos sintéticos, que os destacam como ótimas fontes para o desenvolvimento de fármacos e, principalmente, para o tratamento de câncer. Até 2020, mais de 50% das drogas são derivadas ou inspiradas em produtos naturais (Newman; Cragg, 2020). Em relação aos compostos de origem marinha, oito são utilizados clinicamente: citarabina (Cytosar-U®), vidarabina (Vira-

A®), trabectedina (Yondelis®), ziconotida (Prialt®), mesilato de eribulina (Halaven®), plitidepsina (Aplidin®), brentuximabe vedotina (Adcetris®) e ésteres etílicos do ácido ômega-3 (Lovaza®), sendo cinco deles utilizados para tratamento de neoplasias (citarabina, trabectedina, mesilato de eribulina, brentuximabe vedotina e plitidepsina) (Jimenez *et al.*, 2019; Wilke *et al.*, 2021).

Ainda que pouco explorado, os oceanos constituem 90% do planeta e estima-se que mais de cinco milhões de espécies pertencem a esse ambiente. Dentre elas, há uma diversidade de organismos que produzem metabólitos secundários e são alvos de prospecção. O isolamento de moléculas da esponja *Tectitethya cripta* (de Laubenfels, 1949) na década de 50 por Bergmann e Feeney é considerado o estudo pioneiro no desenvolvimento de fármacos de origem marinha, em que a prospecção das substâncias espongotimidina e espongouridina possibilitaram a criação dos análogos sintéticos Ara-A (Vira-A®) e Ara-C (Cytosar-U®) (Bergmann; Feeney, 1951). O primeiro é um medicamento antiviral indicado para tratar infecções por Herpes simples e *H. zoster* e o segundo, aprovado em 1969 pela FDA (Food and Drug Administration, EUA), é utilizado como fármaco quimioterápico antimetabólito no tratamento de cânceres hematológicos, como leucemias e linfomas (Bernardi *et al.*, 2020; Wilke *et al.*, 2020). Trabectedina (Yondelis®) ou ecteinascidina 743 (ET-743) é um alcalóide extraído da ascídia *Ecteinascidia turbinata* (Herdman, 1880) do Caribe, que funciona como um alquilante de DNA e é utilizado para o tratamento de sarcoma de tecidos moles (D'Incalci *et al.*, 2014; Jimenez *et al.*, 2019; Wilke *et al.*, 2020). Mesilato de eribulina (Halaven®) é uma molécula sintética análoga da halicondrina B, um potente composto anticâncer inibidor de tubulina isolado a partir da esponja japonesa *Halichondria okadai* (Kadota, 1922), com propriedades antimitóticas e foi aprovada para o tratamento de câncer de mama metastático e de lipossarcoma (Newman; Cragg, 2016; Wilke *et al.*, 2020; Hirata; Uemura, 1986; Cortes; Twelves, 2020; Cortes *et al.*, 2018). Brentuximabe vedotina (Adcetris®) é um composto sintético análogo à dolastatina 10, um peptídeo obtido a partir do molusco gastrópode *Dolabella auricularia* (Lightfoot, 1786) empregado no tratamento de linfoma de Hodgkin e linfoma anaplásico de células grandes (Doronina *et al.*, 2003; Senter; Sievers, 2012; Jimenez *et al.*, 2019). A plitidepsina, aplidina ou deidrodidemmina B (Aplidin®) é um depsipeptídeo cíclico análogo à didemmina B extraído da ascídia mediterrânea *Aplidium albicans* (Milne Edwards, 1841), caracterizado pela sua atividade inibitória da síntese protéica e aprovado em 2018 para o tratamento de mieloma múltiplo (Rinehart, 2000; Newman; Cragg, 2004; 2006; Jimenez *et al.*, 2019; Losada *et al.*, 2016; Alonso-Álvarez *et al.*, 2017). A ziconotida (Prialt®) ou ω -conotoxina MVIIA é um peptídeo analgésico isolado da toxina do molusco gastrópode marinho

Conus magus (Linnaeus, 1758). Aplicado para o tratamento de dores crônicas graves associadas ao câncer, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) e neuropatias, esse fármaco exibiu uma maior atividade analgésica do que a morfina e, ainda, não induz tolerância após uso crônico (Pereira, 2011; Bernardi *et al.*, 2020). Por fim, o medicamento Lovaza® é composto por ésteres etílicos do ômega-3 de origem marinha e é comercializado desde 2004 para tratar hiperlipidemia (Glueck *et al.*, 2012; Cartaxo; Colonello, 2017).

No contexto brasileiro, a procura por produtos naturais marinhos tem início nos anos 60 com o Professor Tursch no Rio de Janeiro. O pesquisador realizou pesquisas de prospecção do colesterol do ouriço-do-mar *Echinometra lucunter*, resultando em compostos com atividade bioativa (Tursch *et al.*, 1963; Kelecom, 1997; Costa-Lotufo *et al.*, 2006). Foi apenas na década de 90 que dezenas de invertebrados marinhos foram coletados visando o isolamento dos seus metabólitos secundários, como a descoberta de substâncias derivadas do triptofano, isogranulatimida e granulatimida obtidas a partir da ascídia *Didemnum granulatum* que possui o mecanismo de inibir o ponto de checagem em G2 do ciclo celular, uma importante propriedade anti carcinogênese (Kelecom, 1997; Berlinck *et al.*, 1998; Roberge *et al.*, 1998). Além disso, as esponjas brasileiras constituem o grupo de invertebrados mais estudados no Brasil, um exemplo disso são os compostos isolados da *Arenosclera brasiliensis*, arenosclerina A e haliclonaclamina E, e da *Geodia corticostylifera*, geodiamolida H, que apresentaram capacidade antiproliferativa contra as células do câncer de mama (Torres *et al.*, 2000; Prado *et al.*, 2004; Rangel *et al.*, 2006; Freitas *et al.*, 2008; Costa-Lotufo *et al.*, 2022). Dessa forma, Wilke e colaboradores (2021) em uma revisão exibiram mais de 60 compostos com potencial anticâncer isolados de organismos encontrados na Amazônia Azul, alguns obtidos a partir de 5 espécies de esponjas, 5 espécies de cnidários e 1 microrganismo associado, 7 ascídias e 3 microrganismos associados a elas, e 5 microrganismos associados a sedimentos.

1.3. Amazônia Azul

O Brasil possui uma costa de aproximadamente 8.000 km de extensão, sendo o 16º maior do mundo. Com um território de quase 4 milhões de quilômetros quadrados, 30% da população brasileira habita o litoral marítimo (Freitas; Marques, 2025). Devido à sua importância geográfica, econômica e científica e à necessidade de garantir a proteção da biodiversidade, em 2004, a Marinha do Brasil denominou de Amazônia Azul a Zona Econômica Exclusiva (ZEE) e a extensão da Plataforma Continental que, somados, possuem uma área de aproximadamente 5,7 milhões de quilômetros quadrados (Figura 2). Dessa forma, a costa

brasileira configura-se como um cenário extremamente promissor para estudos e desenvolvimento, em virtude da sua grande diversidade de espécies.

Figura 2: Mapa ilustrativo da Amazônia Azul.

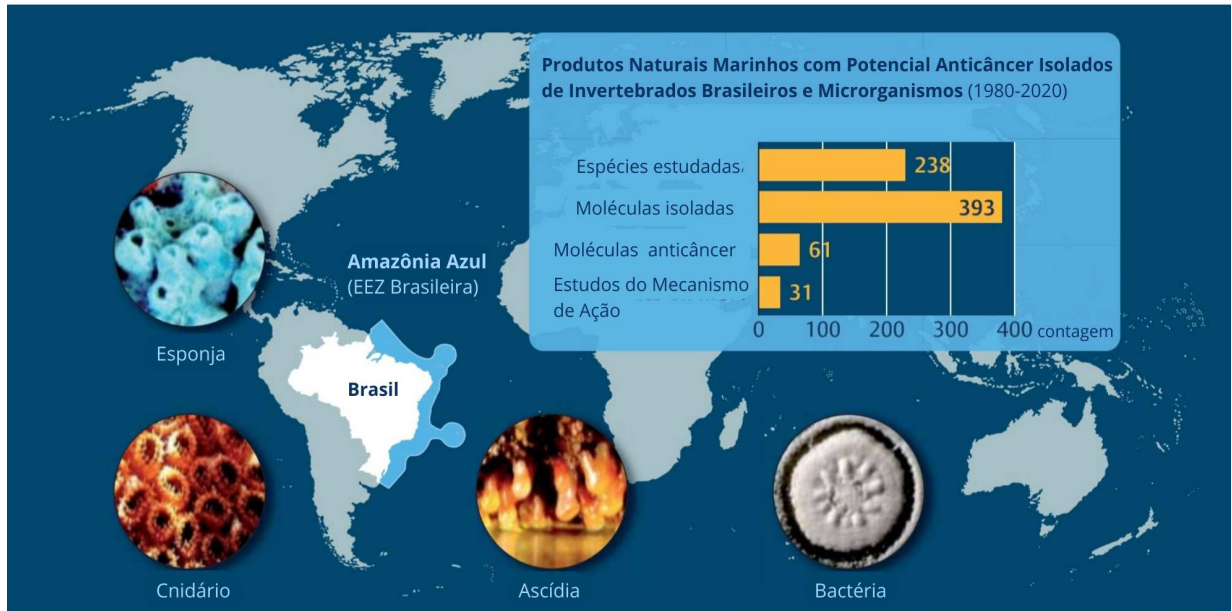


Fonte: Centro de Excelência para o Mar Brasileiro (CEMBRA).

No âmbito científico, diversos programas são coordenados pela Comissão Interministerial para os Recursos do Mar (CIRM), tais como: Avaliação, Monitoramento e Conservação da Biodiversidade Marinha (REVIMAR), Biotecnologia Marinha (BIOMAR); Pesquisas no Arquipélago de São Pedro e São Paulo (PROARQUIPÉLAGO) e na Ilha de Trindade (PROTRINDADE) (MARINHA DO BRASIL). Em conjunto, essas iniciativas contribuíram para os estudos de descrição da biodiversidade e sua conservação.

Na última década, quanto aos estudos de biotecnologia marinha, o país se destacou nas linhas de pesquisa de exploração de produtos microbianos, isolamento de metabólitos secundários, ômicas, desenvolvimento de compostos naturais com propriedades anti-incrustantes e aquicultura (Cavalli *et al.*, 2011; Cavalli, 2020). Quanto à prospecção de moléculas com potencial anticâncer obtidas através de Produtos Naturais Marinhos no Brasil, Wilke e colaboradores (2021) realizaram uma revisão acerca dos últimos 40 anos, identificando um total de 238 espécies estudadas e 393 moléculas isoladas durante esse período, sendo 61 com potencial antitumoral (Figura 3).

Figura 3: Mapa mundial destacando o Brasil e sua Zona Econômica Exclusiva (ZEE). O gráfico de barras representa uma visão geral numérica das conquistas no campo dos PNMs no Brasil, com foco nas moléculas com potencial anticâncer e que foram estudadas quanto aos seus mecanismos de ação.



Fonte: Traduzido de Wilke *et al.* (2021).

Apesar da sua grande riqueza, o Brasil ainda constitui um país com fraca contribuição para a biotecnologia marinha, devido à falta de investimentos e de esforços para a exploração sustentável desse ambiente (Pérez *et al.*, 2020).

1.4. Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro

O Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro é uma Unidade de Conservação criada em 12 de dezembro de 2014 pela Lei N° 10.172. Com 45.274,73 hectares de área, o Parque está localizado na Plataforma Continental da Bacia Pará-Maranhão no litoral do Estado do Maranhão, a cerca de 90 km à noroeste do Parque Estadual Marinho do Parcel de Manuel Luís, sendo Cururu o município costeiro mais próximo (Coura, 2016).

Quanto à fauna, o Banco do Álvaro possui uma rica biodiversidade de organismos marinhos com predominância de corais e esponjas, como os cnidários *Millepora* sp e *Phyllogorgia* sp e os poríferos da ordem Haplosclerida (Silveira, 1998; Coura, 2016).

Em 2010, o Ministério do Meio Ambiente classificou a região com extremamente alta importância e prioridade dos recursos biológicos da zona marinha. Entretanto, apesar dessa

classificação e da sua grande relevância ecológica e científica, o Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro permanece pouco explorado, em especial para os estudos de bioprospecção de espécies com potencial biotecnológico.

1.5. Bactérias associadas a esponjas marinhas

As esponjas são animais invertebrados sésseis, bentônicos e filtradores, exclusivamente aquáticos, pertencentes ao filo Porifera. Constituem o grupo de metazoários mais antigos conhecido, com formas fósseis datando de aproximadamente 580 milhões de anos atrás, porém, estudiosos acreditam que esses animais surgiram há 650 milhões de anos, na era neoproterozóica (Li *et al.*, 1998; Ryan *et al.*, 2013; Zumberge *et al.*, 2018). De acordo com estudos moleculares filogenéticos, o filo Porifera é classificado em quatro classes: Hexactinellida, Demospongiae, Homoscleromorpha e Calcarea (Morrow; Cárdenas, 2015; Aguilar-Camacho; Doonan; McCormack, 2019). Segundo The World Porifera Database (2025), atualmente existem 9753 espécies de poríferos, destas, cerca de 81% pertencem à classe Demospongiae (Cárdenas; Pérez; Boury-Esnault, 2012; Morrow; Cárdenas, 2015).

Visto que permanecem fixas ao substrato bentônico, exceto durante a fase larval, e por possuírem uma morfologia simples, as esponjas desenvolveram estratégias adaptativas principalmente químicas para a sua sobrevivência, participando de interações bióticas com diversas comunidades microbiológicas, tais como arqueas, bactérias, vírus, fungos e protistas (Yang *et al.*, 2017; Van Soest *et al.*, 2022; Ribeiro, 2022; Esteves; Costa, 2014). A maioria desses compostos químicos apresentam estrutura e atividade biológica interessantes para a biotecnologia, especialmente para a produção de fármacos com propriedades antivirais, antibacterianas, antifúngicas, antitumoral, entre outras, sendo o táxon responsável por 30% de todos os metabólitos secundários marinhos conhecidos e o mais estudado na busca por fármacos de origem marinha (Leal *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2017; Costa-Lotufo *et al.*, 2006; Hassan; Shaikh, 2017; Ribeiro, 2022).

O primeiro estudo na área de biotecnologia marinha de fármacos foi proveniente da esponja *Tectitethya cripta* (de Laubenfels, 1949) na década de 50 por Werner Bergmann e Robert Feeney que resultou na descoberta dos análogos de nucleósidos espongotimidina e espongouridina, como mencionado anteriormente, com atividade anticâncer e antiviral (Bergmann; Feeney, 1951). Atualmente, três compostos com origem em esponjas são comercializados: citarabina, halicondrina B e vidarabina (Jimenez *et al.*, 2019). Desde então, diversos metabólitos secundários foram isolados de esponjas com o intuito de estudar as suas

propriedades biológicas e farmacológicas. Entretanto, acredita-se que a maioria dessas substâncias são produzidas pelo microbioma associado ao hospedeiro e não pela esponja (Bewley *et al.*, 1998; Indraningrat *et al.*, 2016). Esse tipo de relação entre macrorganismo e sua comunidade microbiana é denominado holobionte (Simon *et al.*, 2019).

As interações entre esponjas e seus microrganismos associados podem ocorrer de muitas formas, por exemplo, como fontes de alimento, relações de parasitismo ou simbioses mutualísticas (Reiswig, 1975; 1971; Bavestrello, 2000; Hummel, 1988; Lauckner, 1980; Wilkinson, 1983; 1992; Taylor *et al.*, 2007). O microbioma pode representar até 50% do volume total do porífera, com densidades maiores que um bilhão de células de microrganismos por mililitros de tecido (Hentschel *et al.*, 2003; Usher *et al.*, 2004; Hoffmann, 2005; Webster; Hill, 2001). As esponjas podem ser beneficiadas através dos nutrientes fornecidos, transporte de resíduos ou metabólitos ativos, defesa química ou formação da estrutura corporal (Haygood *et al.*, 1999; Kubanek *et al.*, 2003; Wang, 2006). Em troca, o microrganismo holobionte garante um habitat rico em nutrientes com amônia, carboidratos e aminoácidos (Abdelmohsen; Bayer; Hentschel, 2014).

De fato, os poríferos constituem o filo mais prolífico estudado quando se trata do desenvolvimento de novos fármacos de origem marinha. Os compostos encontrados com elevado potencial biotecnológico são: alcalóides, macrolídeos, terpenóides, poliésteres, nucleosídeos e outras substâncias orgânicas (Turon *et al.*, 2018). Devido às suas semelhanças com produtos naturais microbianos e ao registro de ocorrência em esponjas não relacionadas de compostos semelhantes, acredita-se que muitos metabólitos são produzidos pelos microrganismos associados (Faulkner, 2001; Piel, 2004; Wang, 2006; Taylor *et al.*, 2007). Entre os microrganismos associados com grande valor biotecnológico estão o grupo dos actinomicetos.

Os actinomicetos ou Actinomycetales são uma ordem do filo Actinobacteria caracterizada por bactérias gram-positivas que habitam diversos ecossistemas e produzem compostos bioativos com propriedades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitárias, imunomodulatórias, anti-inflamatórias, antioxidantes e anticâncer (Retnowati *et al.*, 2018; Subramani; Sipkema, 2019; Sangkanu *et al.*, 2021; Pimentel-Elardo *et al.*, 2010; Davies-Bolorunduro *et al.*, 2019). O gênero *Streptomyces* se destaca por produzir 70 a 80% de metabólitos secundários, enquanto que aproximadamente 26% são produzidos por raros actinomicetos, como *Amycolatopsis*, *Saccharopolyspora*, *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Streptoverticillium*, *Nocardia*, *Streptosporangium*, *Actinomadura* e *Nocardiosis* (Berdy, 2005; Tiwari; Gupta, 2013; Azman *et al.*, 2015; Jose; Jebakumar, 2005; Adegboye; Babalola,

2013; Gebreyohannes, 2013). Actinomicetos são encontrados no ambiente marinho vivendo livremente ou em simbiose com animais marinhos, como corais, tunicados e peixes, mas a maioria reportada foi isolada a partir de esponjas (Hentschel *et al.*, 2003; Selvin *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2006; Abdelmohsen; Bayer; Hentschel, 2014).

Vários estudos com actinomicetos associados a esponjas foram reportados com resultados promissores (Sun *et al.*, 2015; Shamikh *et al.*, 2020; Beepath *et al.*, 2016). Wicke e colaboradores (2000) isolaram quatro glicerolípídios e um difosfatidilglicerol da cepa HP2 de *Microbacterium sp.* a partir da esponja *Halichondria panacea* coletada na costa da Croácia resultando em um composto com atividade antitumoral contra às linhagens celulares de carcinoma gástrico humano (HM02) e de hepatocarcinoma (Hep G2). Outro estudo avaliou o isolamento de dois derivados de kijanicina, lobofoquina C e lobofoquina D, a partir da cepa AZS17 de *Streptomyces carnosus* associada à esponja *Hymeniacidon sp.*, a primeira substância demonstrou atividade citotóxica contra a linhagem 7402 de câncer de fígado e a segunda possui efeito inibitório do crescimento de células da linhagem MDA-MB 435 de carcinoma de mama (Wei *et al.*, 2011).

Hernandez *et al.* (2000) obtiveram dois derivados de estaurosporina, 4'-N-metil-5'-hidroxistaurosporina e 5'-hidroxiestaurosporina, isolados de *Micronospora sp.* L-31-CLCO-002 associado à esponja *Clathrina coriacea* que foi coletada na costa de Fuerteventura, nas Ilhas Canárias. Estaurosporina é um composto que apresenta atividade inibitória potente de proteínas quinases dependentes de ATP e seus derivados demonstraram citotoxicidade contra macrófagos murinos P388D1, adenocarcinoma de pulmão humano A549 e melanoma SK-MEL-28. IB-96212 é um macrolídeo purificado a partir dos extratos de *Micronospora sp.* L-25-ES25-008 isolado de uma esponja não identificada em Moçambique, no Oceano Índico, que demonstrou atividade citotóxica contra as linhagens tumorais de leucemia murina P-388, carcinoma pulmonar humano de não pequenas células A-549, adenocarcinoma de cólon HT-29 e melanoma MEL-28 (Canedo; Fernandez-Puentes; Baz, 2000; Fernandez-Chimeno *et al.*, 2000).

Em Qingdao, na China, *Saccharopolyspora sp.* foi isolada a partir da esponja *Mycale plumose*, resultando em dois compostos, metacicloprodigiosina e undecilprodigiosina, que apresentaram atividades citotóxicas *in vitro* contra quatro linhagens celulares tumorais: linfoma murino P388, promieloblasto humano do sangue periférico HL60, carcinoma de pulmão A-549 e hepatocarcinoma BEL-7402 (Liu *et al.*, 2000). Além disso, metacicloprodigiosina demonstrou atividade antiplasmodial contra o parasita da malária *Plasmodium falciparum* (Isaka *et al.*, 2002). Um tipo de diazepinomicina foi purificado a partir do extrato de

Micromonospora sp. RV 115 associado à esponja Mediterrânea *Aplysina aerophoba* e demonstrou atividade antitumoral contra leucemia e tumores sólidos, como melanomas e gliomas e, atualmente, se encontra na fase 2 dos testes clínicos para ser comercializado pela empresa Thallion (Campas, 2009; Abdelmohsen; Bayer; Hentschel, 2014). Nova anguciclinona, PM070747, produzida pela cepa PEM-06-F23-019B de *Saccharopolyspora taberi* coletada a partir de uma esponja marinha próxima à costa da Tanzânia, demonstrou atividade antitumoral contra as linhagens celulares MDA-MB-231 de adenocarcinoma mamário, HT-29 de adenocarcinoma colorretal e A-549 de carcinoma pulmonar (Vicente *et al.*, 2013).

Quanto ao contexto brasileiro, nota-se esforços de pesquisas que buscam o isolamento de moléculas produzidas por actinomicetos, porém, são escassos os trabalhos robustos com esse grupo de bactérias associados à esponjas com testes antitumorais. Alzate (2018), em sua dissertação de mestrado, isolou 80 bactérias, destas, 35% foram de esponjas do arquipélago Atol das Rocas, no Rio Grande do Norte, em que 65% foi proveniente da *Chondrilla cf. núcula* e 32% da *Plakinastrella microspiculifera*. Dos 80 extratos testados, 30 apresentaram atividade citotóxica relevante contra a linhagem HCT-116 de câncer colorretal humano, destes, 11 procederam de esponjas. Os gêneros mais abundantes de bactérias encontrados foram *Streptomyces* e *Salinispora*.

Além dos actinomicetos, no Brasil também há pesquisas com outros grupos de bactérias, como o gênero *Pseudovibrio* da ordem Hyphomicrobiales, e fungos associados a esponjas que produzem metabólitos secundários com relevância biotecnológica (Martins *et al.*, 2021; Wilke *et al.*, 2020). Entretanto, a maioria dos estudos tem o objetivo de investigar as propriedades antivirais desses compostos, enquanto que a prospecção de moléculas potencialmente antitumorais obtidas através de microrganismos associados à esponjas permanece escassa.

2. JUSTIFICATIVA

O câncer é considerado um problema de saúde pública mundial e é a segunda maior causa de mortalidade do mundo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que os casos aumentarão em 77% no ano de 2050 quando comparados aos 20 milhões de registros em 2022. O câncer possui uma alta relevância pelo seu caráter epidemiológico e, apesar da comercialização de múltiplas drogas com diversos efeitos, o êxito terapêutico não é atingido

devido a falhas nos procedimentos dos tratamentos, a altas possibilidades de recidivas, à diminuição da sobrevida dos pacientes e à grande quantidade de efeitos adversos (GLOBOCAN, 2020; INCA, 2020). Dessa forma, a busca por novas tecnologias e novos fármacos que conduzem os pacientes oncológicos para melhores prognósticos e tratamentos com mínimo de efeitos colaterais é uma demanda imprescindível e urgente.

No contexto brasileiro, o país é detentor de uma enorme riqueza natural marinha. Com seu extenso litoral, o Brasil abriga diversas espécies marinhas pouco exploradas em um território de quase 6 milhões de quilômetros quadrados da Amazônia Azul, se caracterizando como uma excelente fonte de novos PNM's, especialmente com potencial anticâncer.

Os estudos com invertebrados marinhos vêm se destacando desde a década de 50 quando citarabina (Cytosar-U®), o primeiro fármaco antineoplásico, foi isolado a partir de uma esponja marinha. Além dele, outros três fármacos derivados de ascídias, esponjas e moluscos, respectivamente, são comercializados clinicamente: trabectedina (Yondelis®), mesilato de eribulina (Halaven®) e o anticorpo conjugado brentuximabe vedotina (Adcetris®). Entretanto, acredita-se que, em sua maioria, os compostos são provenientes de metabólitos secundários produzidos pelos microrganismos associados. As pesquisas visando o isolamento dessas moléculas a partir dos microrganismos demonstram ser mais sustentáveis e com menos custos comparadas àquelas advindas de animais marinhos, visto que reduzem o impacto ecológico da coleta em larga escala dessas espécies e essa prática permite a obtenção de um maior rendimento das substâncias através da cultura em larga escala ou da fermentação de bactérias, por exemplo. Além disso, o método utilizado de testagem fenotípica (*in vitro*) permite um maior controle experimental das condições das amostras e uma maior rapidez, além de possuir um baixo custo quando comparado a testes *in vivo*.

Portanto, o presente estudo parte do questionamento acerca da presença do potencial antitumoral *in vitro* de extratos provenientes de bactérias associadas a esponjas da Amazônia Azul. Este estudo tem como hipótese que esses microrganismos produzem metabólitos secundários com características antiproliferativas contra células cancerígenas da linhagem tumoral de câncer colorretal humano HCT-116, a fim de contribuir para o conhecimento de fármacos anti neoplásicos de origem marinha.

3. OBJETIVOS

Objetivo geral

Investigar o potencial antitumoral de extratos produzidos por bactérias associadas às esponjas marinhas *Cinachyrella kuekenthali*, *Clathria nicolae* e *Coelocarteria amadoi* do Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro, no estado do Maranhão.

Objetivos específicos

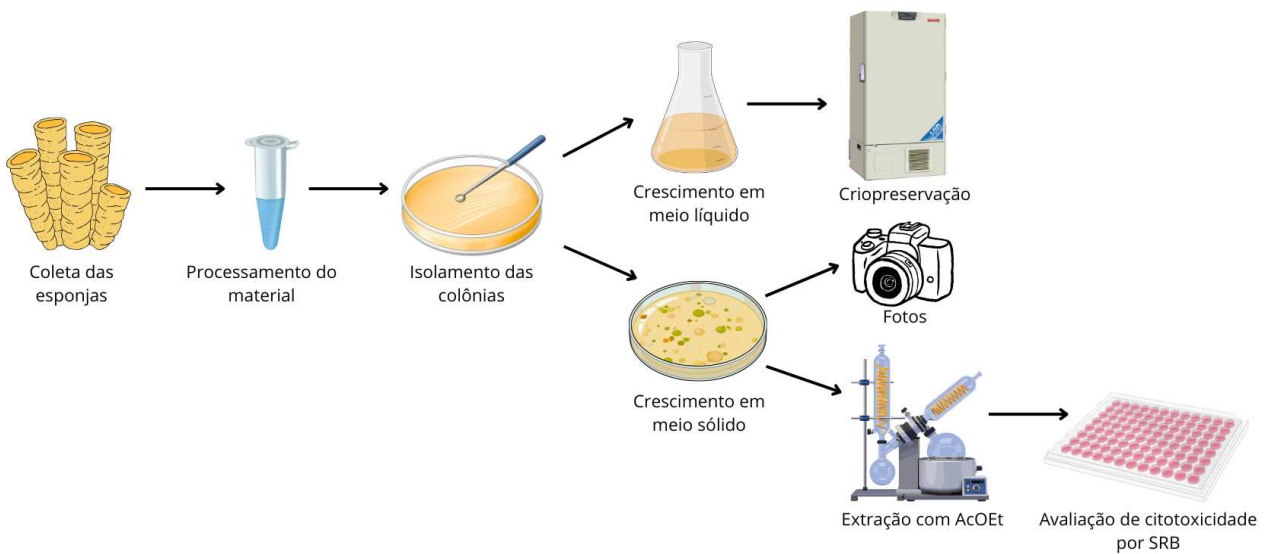
- Isolar e cultivar bactérias associadas a esponjas marinhas *Cinachyrella kuekenthali*, *Clathria nicolae* e *Coelocarteria amadoi* coletadas no Banco do Álvaro;
- Preparar extratos orgânicos brutos das culturas de bactérias isoladas;
- Avaliar a citotoxicidade dos extratos brutos obtidos em células tumorais *in vitro*.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Planejamento Experimental

O planejamento experimental deste trabalho consistiu na coleta e processamento de três amostras de esponjas marinhas previamente identificadas como: *Clathria nicoleae*, *Cinachyrella kuekenthali* e *Coelocarteria amadoi*, pela equipe da Professora Dra. Sula Sulani Mota da Universidade do Distrito Federal (UnDF), seguido do isolamento de microrganismos associados. O processamento ocorreu através de dois métodos, o primeiro consistiu em trituração seguida da adição de água do mar artificial, formando um caldo, e o segundo foi realizado a trituração e posterior aquecimento da pasta rala em banho seco. Cada caldo foi transferido para um eppendorf e espalhados com alça biológica em dois meios de cultura sólidos para crescimento e isolamento das linhagens bacterianas. Posteriormente, as cepas isoladas foram crescidas em meio líquido A1 para criopreservação no ultrafreezer a -70°C . A extração das linhagens foi realizada em meio sólido com acetato de etila (AcOEt). Quatro extratos orgânicos obtidos de *Cinachyrella kuekenthali* foram testados posteriormente em células tumorais *in vitro* para avaliação da citotoxicidade a partir do método de sulforodamina B (SRB). O planejamento experimental se encontra resumido na figura 4.

Figura 4: Representação esquemática das etapas do planejamento experimental.



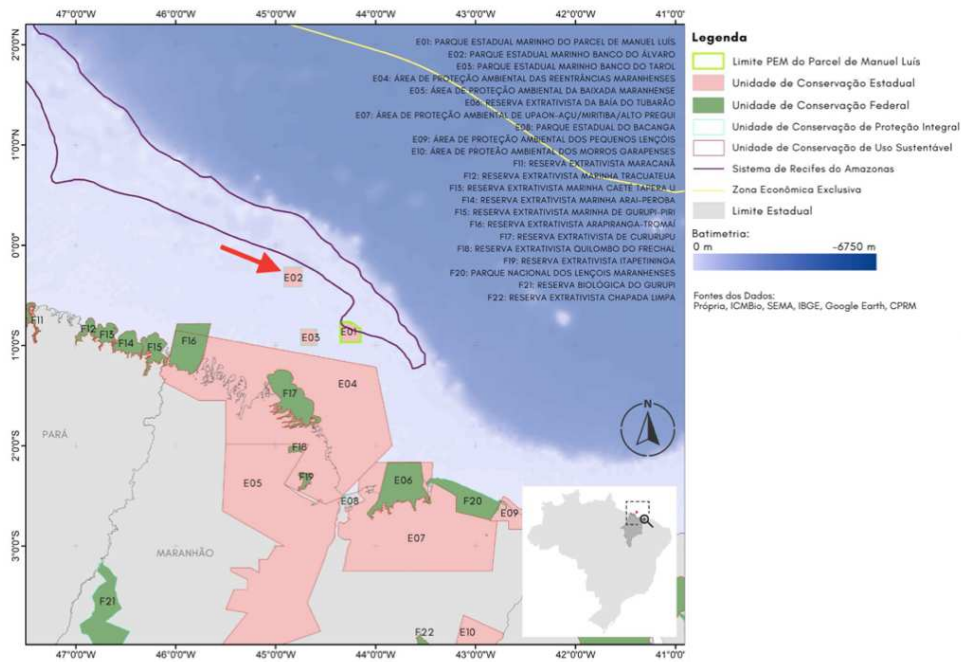
Fonte: Elaborado pela autora.

4.2. Coleta do material

A coleta das amostras foi realizada durante a expedição PROAMAZONAS I coordenada pela Divisão de Geologia Marinha (DIGEOM) do Serviço Geológico do Brasil (SGB) em parceria com a Marinha do Brasil e a Empresa Petróleo Brasileiro SA (Petrobras). As atividades de coleta ocorreram a bordo do Navio de Pesquisa Hidroceanográfico Vital de Oliveira (NPqHo), que deu suporte logístico e operacional às atividades científicas realizadas durante a expedição. A área de coleta se concentrou no Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro, localizado na zona costeira do estado do Maranhão, à aproximadamente 240 km da capital São Luís (Figura 5).

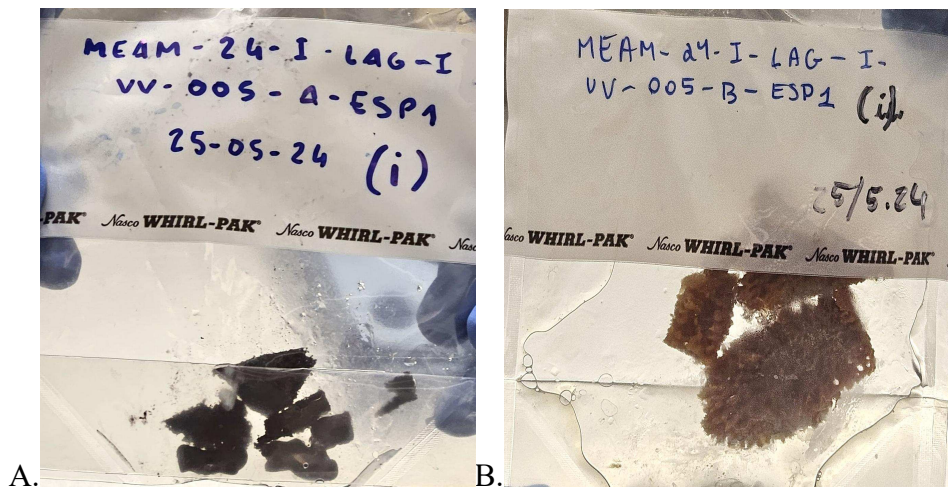
Após a coleta com o amostrador do tipo Van Veen, o material foi armazenado em sacos para amostra da Nasco Whirl-pak com tarja estéril (Figura 6), identificado com código (Tabela 1) e posteriormente conservado a -20°C em freezer até o seu processamento. Apenas a amostra referente à *Cinachyrella kuekenthali*, foi subdividida em parte externa e interna da esponja. A coleta das amostra pela expedição foi autorizada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e pelo Conselho Gestor do Patrimônio Genético (CGen), o número do SISBIO é 94324 e do SISGEN é AAAC4F.

Figura 5: Localização do Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro (seta vermelha).



Fonte: Adaptado de Maranhão (2021).

Figura 6: Esponjas armazenadas em Saco para Amostra Nasco após coleta. O código VV foi substituído por AV. A: AV-005-A-ESP1 (*Coelocarteria amadoi*); B: AV-005-B-ESP1 (*Clathria nicoleae*); C: AV-018-A-ESP2-EXT e AV-018-A-ESP2-INT (ambas *Cinachyrella kuekenthali*).





C.

Fonte: Arquivo pessoal da autora.

As amostras foram identificadas de acordo com o código exemplificado abaixo (Tabela 1).

Tabela 1: Nomenclatura do código das amostras de esponjas.

Exemplo de código	Significado
AV-018-A-ESP2-INT	AV: Código do local de coleta (Referente ao Parque Banco do Álvaro).
	018-A-ESP: Número de registro do invertebrado coletado.
	INT: Específico para <i>Cinachyrella kuekenthali</i> . que foi subdividida em duas partes: interior e exterior (INT e EXT).

4.3. Identificação das esponjas

As amostras foram identificadas através da análise morfológica (cor, forma, presença ou ausência de estruturas) dos espécimes pela equipe da Professora Dra. Sula Sulani Mota da Universidade do Distrito Federal (UnDF) em parceria com o Laboratório de Invertebrados Marinhos do Ceará (UFC).

Os espécimes analisados e processados neste trabalho foram AV-005-A-ESP1 (*Coelocartheria amadoi*); AV-005-B-ESP1 (*Clathria nicoleae*) e AV-018-A-ESP2 (*Cinachyrella kuekenthali*).

Os espécimes coletados foram fotografados e posteriormente encaminhados ao Laboratório de Invertebrados Marinhos do Ceará (LIMCE), onde foram tombados e identificados por meio da confecção de lâminas de espículas e de esqueleto.

Para a análise do esqueleto, realizaram-se cortes perpendiculares com lâminas de bisturi, que foram montados e selados com Bálsamo do Canadá. A visualização das espículas foi obtida após a dissolução dos fragmentos em Hipoclorito de Sódio, permitindo a sua observação em microscópio óptico Olympus CH30. O protocolo de preparação das lâminas foi adaptado de Hajdu *et al.* (2011), assegurando a padronização do processamento.

A identificação das amostras baseou-se na comparação detalhada dos caracteres morfológicos observados com descrições disponíveis na literatura especializada (Barros *et al.* 2013; Hajdu *et al.*, 2011; Bettcher-Brito *et al.*, 2023; de Voogd *et al.*, 2025).

4.4. Meios de cultura

Para o processamento inicial, foram utilizados dois meios de cultura sólidos em placas de Petri: Sea Water Agar (SWA) e SCA. O meio Sea Water Agar consistia em 18g de ágar dissolvidos em 750 mL de água do mar artificial e 250 mL de água destilada. O meio SCA foi composto por 10g de amido, 2g de peptona, 4g de extrato de levedura, 18g de ágar, 750 mL de água do mar artificial e 250 mL de água destilada. Todos os meios de cultura foram esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos. Inicialmente, ambos foram suplementados com 0,1 mg/ml do antifúngico cicloheximida (Velasco-Alzate, 2019).

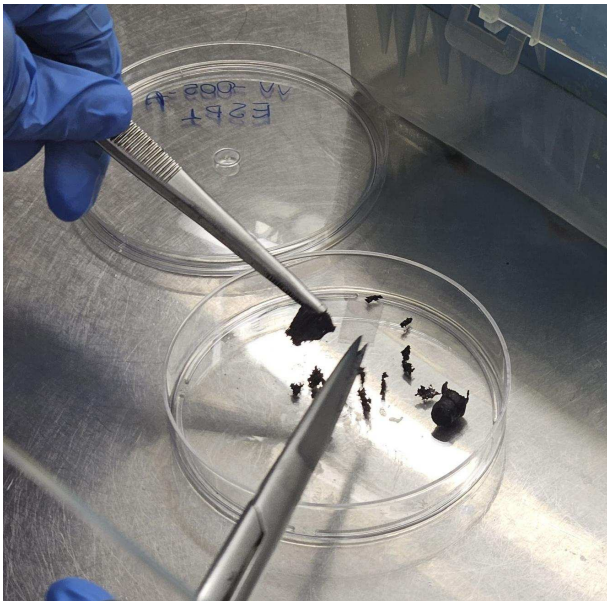
O meio SCA sólido (10g de amido, 2g de peptona, 4g de extrato de levedura, 18g de ágar, 750 mL de água do mar artificial e 250 mL de água destilada) foi utilizado para o isolamento dos microrganismos após a etapa de processamento e para a obtenção dos extratos orgânicos. O meio SCA líquido (10g de amido, 2g de peptona, 4g de extrato de levedura, 750 mL de água do mar artificial e 250 mL de água destilada) foi armazenado em Erlenmeyer e destinado para o crescimento de cepas isoladas para criopreservação.

4.5. Processamento das amostras

As amostras coletadas foram processadas no Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia Marinha (LaBBMar) do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará (UFC). Depois de armazenadas no freezer a -20°C, as amostras foram descongeladas e pesadas aproximadamente 1g de cada em

uma balança analítica. No interior de uma câmara de fluxo unidirecional (Filtracom Mini Flow I), as esponjas foram trituradas com tesoura (Figura 7) e adicionadas água do mar artificial estéril em uma proporção de 1:1 até a formação de uma pasta rala em uma placa de Petri. A massa obtida foi transferida para um eppendorf, plaqueada 200 μ L com uma pipeta nas placas contendo os meios de cultura SWA e SCA para cada invertebrado e espalhada através da técnica de esgotamento por estrias com auxílio de uma alça estéril, caracterizando o primeiro método ou M4. Já para o segundo ou M5, o eppendorf contendo a pasta foi aquecido em banho seco a 55°C por 10 minutos. Após o aquecimento, a amostra foi pipetada 200 μ L em cada placa contendo meio de cultura SWA e SCA e realizou-se o espalhamento com alça de inoculação estéril conforme a técnica de esgotamento por estrias. As placas foram armazenadas em estufa BOD a 26°C por no máximo 3 meses e identificadas de acordo com a Tabela 2.

Figura 7: Trituração inicial da esponja *Coelocartheria amadoi* com tesoura e pinça autoclavadas.



Fonte: Arquivo pessoal da autora.

Tabela 2: Nomenclatura do código das cepas isoladas.

Exemplo de código da placa de cultura	Significado do código
	AV: Referente ao local de coleta (Parque Banco do Álvaro).
	018-A-ESP2: Número de registro da esponja

AV-018-A-ESP2-INT-M4-SCA-001	coletada.
	INT: Específico para essa amostra que foi subdividida em interior e exterior (INT e EXT).
	M4: Método de processamento das cepas.
	SCA: Tipo do meio de cultura utilizado.
	001: Número da cepa isolada a partir da placa-mãe de processamento.

4.6. Isolamento dos microrganismos associados

O isolamento dos microrganismos ocorreu em placas de ágar contendo o meio SCA conforme as colônias surgiam a partir do processamento. O surgimento de novas colônias foi monitorado diariamente.

À medida que as culturas cresceram, a obtenção de culturas puras foi realizada por meio de três repiques sucessivos até o isolamento total utilizando a técnica de esgotamento por estrias com alça de inoculação. As cepas selecionadas foram separadas de acordo com as diferenças morfológicas (cor, textura, brilho, etc) e inoculadas em placas de Petri 90x15 contendo meio SCA. O período de incubação entre cada repique foi entre 7 a 10 dias. Apenas para o terceiro repique, foram cultivadas três placas de ágar com os microrganismos isolados, uma destinada ao congelamento (criopreservação), outra para a extração e, por fim, uma para fotos oficiais.

4.7. Criopreservação dos microrganismos

Após o terceiro repique, o meio sólido contendo a colônia isolada foi cortado com espátula, inserido em 100 mL de meio SCA líquido em um Erlenmeyer e mantido em agitação por 7 dias em agitador orbital a 26°C com aproximadamente 150 rpm para crescimento. Em seguida, dentro do fluxo laminar, 500 µL de glicerol 50% diluído em água destilada estéril (1:1) e 500 µL do caldo da cultura foram adicionados em cada criotubo com capacidade de 2 mL, totalizando 5 replicatas por cepa. A mistura foi homogeneizada com pipeta e os frascos foram rapidamente congelados em ultrafreezer (MDF-U54VC, Sanyo) a -70°C.

As cepas isoladas foram cadastradas no MicroMarin, banco de bactérias do Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia Marinha e renomeadas com o código BRA-XXX de acordo com a numeração sucessiva do banco.

4.8. Obtenção dos extratos orgânicos

A obtenção dos extratos orgânicos das culturas ocorreu no Laboratório de Análise Fitoquímica de Plantas Medicinais (LAFIPLAM) do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica no campus do Pici da Universidade Federal do Ceará, em colaboração com a Profa. Dra. Otília Deusdênia Loiola Pessoa.

A extração dos cultivos foi realizada em meio SCA sólido após o período de crescimento do terceiro repique (7 dias). Primeiramente, o meio de cultura foi cortado com o auxílio de uma espátula em um Béquer de 250 mL e adicionado aproximadamente 50 mL de acetato de etila (AcOEt) até a cobertura total do material. Após isso, o conteúdo do Béquer foi submetido à sonicação em banho ultrassônico por 20 minutos a 35°C. Por fim, os extratos brutos foram obtidos através da rotaevaporação e pesados com balança de precisão.

4.9. Cultivo da linhagem tumoral

As células da linhagem de câncer colorretal humano (HCT-116) foram cultivadas em frascos plásticos para cultura (Sarstedt, 25 cm, volume de 50 mL ou 75 cm, volume de 250 mL) com a utilização de meio de cultura DMEM (Difco) suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos (100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina). O manuseio da cultura ocorreu em câmara de fluxo laminar vertical (ESCO, modelo Airstream classe II-B2; VECO, modelo Biosafe 12 classe II) e foi mantida em incubadora de CO₂ a 37°C com atmosfera de 5% de CO₂ (SANYO, modelo MCO-19AIC; NUAIRE, modelo TS Autoflow).

O crescimento celular foi monitorado diariamente utilizando um microscópio óptico invertido (LABOMED, modelo TCM 400; Nikon, modelo Diaphot). A manutenção do meio de cultura para um novo foi feita quando necessária dentro do limite de 70% de confluência. O despreendimento das células aderidas foi realizado com o auxílio de uma solução de tripsina-EDTA 0,5% (Gibco) diluída 10X em PBS.

4.10. Avaliação da atividade citotóxica *in vitro*

Quatro extratos isolados de *Cinachyrella kuekenthali* foram analisadas quanto à atividade antiproliferativa contra as células tumorais da linhagem HCT-116 (câncer colorretal humano) através do ensaio da sulforodamina B (SRB). Sendo elas: BRA-739, BRA-740, BRA-741 e BRA-742.

O método colorimétrico de SRB foi desenvolvido em 1990 por Skehan e colaboradores (Skehan *et al.*, 1990), para a determinação da densidade celular, por meio da contagem da quantidade de proteínas celulares. O SRB é um corante aminoxanteno de cor rosa brilhante que se liga a resíduos de aminoácidos de células fixadas com ácido tricloroacético (TCA) em placas de cultura. Essa ligação é estequiométrica, então, a presença de coloração é diretamente proporcional à massa celular. É um ensaio amplamente utilizado para o *screening in vitro* da citotoxicidade de fármacos contra células cancerígenas (Vichai, Kirtikara, 2006).

Para o teste de SRB, as células tumorais HCT 116 foram distribuídas em uma placa de 96 poços na concentração de 20.000 células/poço e incubadas em estufa, sob condições de 37°C, atmosfera de 5% de CO₂ e 95% de umidade. Após 24 horas do plaqueamento, as amostras foram adicionadas na concentração de 50 µg/mL na linhagem HCT 116 e incubadas por 72h. Além disso, também foram utilizados a doxorrubicina como controle positivo e DMSO como controle negativo na mesma concentração e no mesmo período de incubação. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata.

Após o tempo de incubação com os extratos as placas foram fixadas as placas teste com TCA e armazenadas a 4°C por 1 h. Passado esse período, realizou-se 3 lavagens consecutivas com 200 µL água destilada e secagem. Posteriormente, foi acrescentado 100 µL de SRB 0,4% às placas e incubadas por 30 minutos. Então, o SRB foi retirado e a lavagem das placas foi feita 3 vezes com 200 µL de ácido acético. Depois da remoção do ácido, 200 µL de tampão Tris Base 10mM foi acrescido e as placas foram colocadas em agitação em um agitador orbital a 70 rpm por 10 minutos. A absorbância foi determinada em espectrofotômetro a 570 nm e prosseguiu-se para o cálculo do % de inibição do crescimento.

4.11. Análise dos dados

Os resultados da leitura das absorbâncias foram organizados em dados brutos. Em seguida, os valores foram normalizados no software GraphPad Prism, utilizando a média dos controles negativos como 100% . A porcentagem de inibição do crescimento celular foi

determinada com base nos dados normalizados. Os extratos que apresentaram inibição da proliferação celular igual ou superior a 75% foram considerados ativos e promissores.

5. RESULTADOS

5.1. Isolamento das colônias bacterianas

À medida que as colônias de microrganismos iam crescendo a partir da placa inicial do processamento, três repiques sucessivos com um período de 7 dias entre eles foram realizados em meio sólido SCA. Não foi observado crescimento em meio SWA. Foram isoladas 8 cepas. As cepas foram identificadas no banco de dados MicroMarin, sendo elas: BRA-739, BRA-740, BRA-741, BRA-742, BRA-748, BRA-749, BRA-750 e BRA-751. Todas seguiram para as etapas de extração em meio sólido e de criopreservação em meio líquido e apenas as quatro primeiras foram testadas no ensaio do SRB.

O código original da placa de cultura e sua esponja de origem equivalentes à cepa cadastrada no MicroMarin foram exemplificados na Tabela 3.

Tabela 3: Código da placa de cultura e fonte do isolamento (esponja de origem) correspondente à cepa BRA-XXX.

Cepa cadastrada no MicroMarin (BRA-XXX)	Código inicial da placa de cultura correspondente	Esponja de origem
BRA-739*	AV-018-A-ESP2-EXT-M5-SCA-001	<i>Cinachyrella kuekenthali</i>
BRA-740*	AV-018-A-ESP2-INT-M4-SCA-001	<i>Cinachyrella kuekenthali</i>
BRA-741*	AV-018-A-ESP2-EXT-M5-SCA-003	<i>Cinachyrella kuekenthali</i>
BRA-742*	AV-018-A-ESP2-EXT-M4-SCA-001	<i>Cinachyrella kuekenthali</i>
BRA-748	AV-005-B-ESP1-M5-SCA-001	<i>Clathria nicoleae</i>
BRA-749	AV-005-A-ESP1-M4-SCA-002	<i>Coelocartheria amadoi</i>

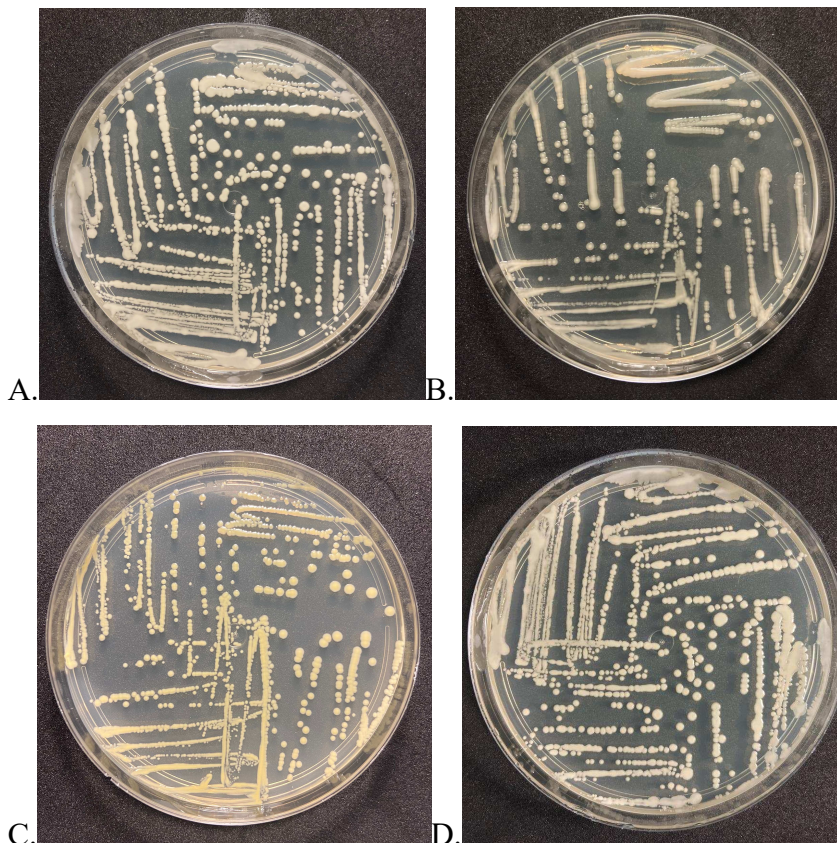
BRA-750	AV-018-A-ESP2-EXT-M4-SCA-002	<i>Cinachyrella kuekenthali</i>
BRA-751	AV-018-A-ESP2-EXT-M5-SCA-002	<i>Cinachyrella kuekenthali</i>

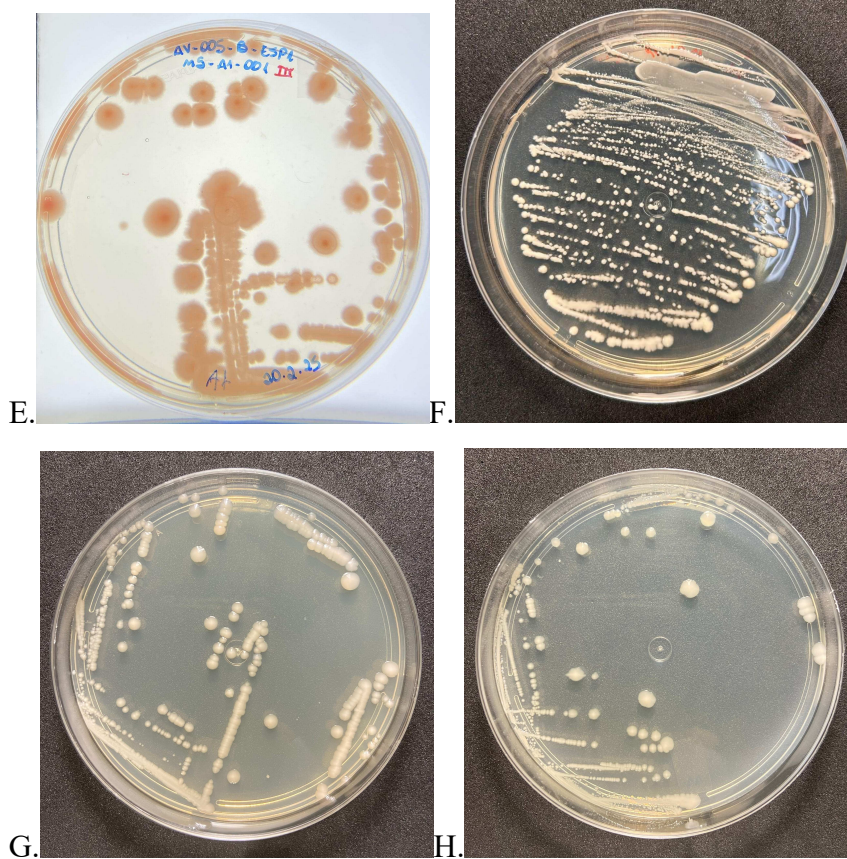
Dessa forma, de acordo com os dados apresentados na tabela, é possível observar uma predominância de 75% (6 cepas) de microorganismos isolados do invertebrado marinho *Cinachyrella kuekenthali*. Além disso, 50% cresceram a partir do método de processamento 4 (M4) e 50% a partir do método 5 (M5). *Os extratos que seguiram para a avaliação da atividade proliferativa são provenientes apenas de *Cinachyrella kuekenthali* (BRA-739, BRA-740, BRA-741 e BRA-742). O restante dos extratos pode servir para estudos posteriores.

5.1.1. Aspectos morfológicos das cepas isoladas

Foram recuperadas 8 cepas isoladas de acordo com os seus aspectos morfológicos observados, como cor e forma (Figura 8).

Figura 8: Fotos de placas das cepas isoladas. A - BRA-739; B - BRA-740; C - BRA-741; D - BRA-742; E - BRA-748; F - BRA-749; G - BRA-750; H - BRA-751.





Fonte: Arquivo pessoal da autora.

5.2. Massa dos extratos orgânicos

Após a extração com acetato de etila (AcOEt), os extratos selecionados para avaliação da atividade antiproliferativa (BRA-739, BRA-740, BRA-741 e BRA-742) foram pesados com balança de precisão. A cepa que apresentou o extrato com maior massa foi a BRA-742, com 10,5 miligramas (Tabela 4).

Tabela 4: Massa dos extratos orgânicos obtidos das cepas escolhidas para o ensaio de SRB.

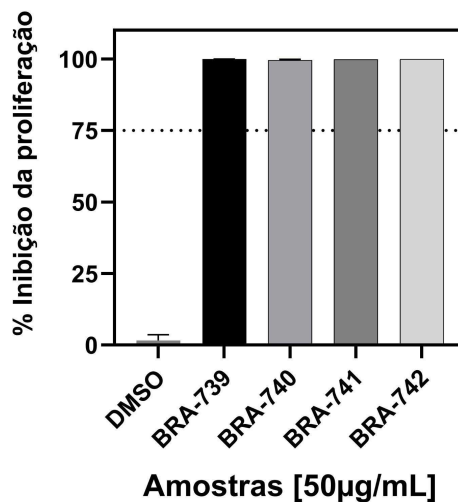
Amostra	Massa do extrato
BRA-739	2,4 mg
BRA-740	2,1 mg
BRA-741	2,9 mg
BRA-742	10,5 mg

5.3. Avaliação da atividade citotóxica *in vitro*

A atividade antiproliferativa *in vitro* dos extratos orgânicos foi testada através do ensaio de sulforrodamina B (SRB) contra a linhagem de câncer colorretal humano HCT-116. Os resultados demonstraram que todas as amostras isoladas apresentaram elevada citotoxicidade, exibindo percentual de inibição do crescimento celular próximo a 100%.

Dessa forma, todos os 4 extratos (BRA-739, BRA-740, BRA-741 e BRA-742) foram considerados ativos contra à linhagem HCT-116 promovendo um rendimento positivo de 100% (Figura 9).

Figura 9: Inibição do crescimento de linhagem de células de câncer de cólon (HCT-116) após 72h de incubação com extratos acetato de etila de bactérias associadas à esponja *Cinachyrella kuekenthali*, através do método de SRB.



Fonte: Elaborado através do GraphPad Prism.

6. DISCUSSÃO

A prospecção de Produtos Naturais Marinhos tem se mostrado extremamente importante e promissora do ponto de vista biotecnológico, especialmente no contexto da descoberta e do desenvolvimento de novas substâncias farmacológicas visando a promoção da melhoria da qualidade de vida de certos indivíduos portadores de doenças, como o câncer. Os estudos das moléculas provenientes do ambiente marinho podem alcançar a fase clínica e, até

mesmo, a comercialização, como o caso do fármaco citarabina (Cytosar-U®) isolado de porífero. Nesse cenário, as esponjas pertencem ao grupo de invertebrados que mais contribuíram ao longo dos anos com o conhecimento acerca dos compostos bioativos de origem marinha. Essa contribuição está relacionada ao fato de serem organismos sésseis que não possuem estratégias mecânicas de defesa, o que os levou a desenvolverem mecanismos químicos para sobreviver à competição e à predação, produzindo diversos metabólitos secundários, incluindo nucleosídeos, terpenóides, alcalóides, aminoácidos, esteróis, macrolídeos, peptídeos cíclicos, entre outros, sendo que a maioria apresenta atividade antimicrobiana, antiviral e anticancerígena (Blunt *et al.*, 2017; Zahwa *et al.*, 2025). Entretanto, evidências indicam que esses compostos são originados da microbiota das esponjas que podem representar até 50% da biomassa total do porífero, incluindo bactérias, arqueas e eucariotos (Webster *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007; Cuvelier *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2023). Os microrganismos associados podem apresentar relações de parasitismo, mutualismo e comensalismo e se beneficiam dos nutrientes enquanto contribuem para a defesa química do porífero, produzindo metabólitos secundários, químicos tóxicos e fornecendo resistência a doenças (Thomas *et al.*, 2016; Maldonado; Young 1998; Engel; Pawlik 2000; Thakur *et al.* 2003; Amelia *et al.*, 2022).

A produção de substâncias bioativas a partir de esponjas apresenta limitações significativas devido às grandes quantidades de biomassa necessárias, ao cultivo lento e exigente e às questões ambientais, visto que interfere na sobrevivência de recifes (Indraningrat *et al.*, 2021; Anteneh *et al.*, 2021; Chiarello *et al.*, 2020). Porém, graças aos estudos com a microbiota produtora de compostos bioativos, o foco de bioprospecção reside nesses microrganismos, visto que o cultivo em escala industrial é mais viável e rentável por ser um processo rápido e necessitar de uma menor infraestrutura (Fahmy; Abdel-Tawab, 2021; Molinski *et al.*, 2009).

Dessa forma, os resultados obtidos neste trabalho permitiram o isolamento de 8 cepas bacterianas associadas às esponjas, sendo 6 isoladas a partir de *Cinachyrella kuekenthali*, 1 de *Clathria nicoleae* e 1 de *Coelocarteria amadoi*, coletadas no Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro, no estado do Maranhão. Vale ressaltar que, até então, esse é o primeiro registro das duas últimas espécies no estado. Esse achado demonstra a importância da bioprospecção para a biodiversidade brasileira.

Há alguns registros encontrados acerca dos estudos de bioprospecção de esponjas do gênero *Cinachyrella*. Berquist e Bedford (1980), por exemplo, reportaram a presença de

atividade antimicrobiana utilizando extratos de *Cinachyra* sp. (posteriormente renomeada *Cinachyrella* sp.) em diclorometano e metanol contra bactérias gram-negativas, tais como *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida* e *Vibrio* sp. Barnathan e colaboradores (1992a) encontraram ácidos graxos fosfolipídios em *Cinachyrella alloclada* Uliczka das classes fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilcolina e fosfatidilinositol, que atuam como componentes da membrana celular e como precursores de metabólitos bioativos, sendo importantes para sinalização celular, apoptose, inflamação e proliferação (Van Meer *et al.*, 2008; Di Paolo; De Camilli, 2006; Ulrich, 2014; Vance, 2015; Molinski, 2009; Uliczka, 1929). No mesmo ano, Barnathan e colaboradores (1992b) estudaram a composição de esteróides das espécies *Cinachyrella alloclada*, *C. kuekenthali* e *C. schulzei* e identificaram a presença de clionasterol, seguido de colesterol e brassicasterol, esses compostos podem estar associados à contribuição metabólica de organismos simbiontes e seus derivados possuem aplicações farmacológicas, como substâncias com potencial anticâncer (Barnathan *et al.*, 1992; Faulkner, 1988; Molinski, 2009; Sipkema, 2005). Similarmente aos extratos testados neste trabalho, Poza e colaboradores (2007) identificaram atividade citotóxica relevante de análogos de hidroxiaminoesteroides isolados inicialmente de *C. alloclada* e *C. apion* contra a linhagem celular de câncer colorretal humano HCT 116. Rabelo e pesquisadores (2012) avaliaram a atividade antiproliferativa e a capacidade de induzir morte celular em células de adenocarcinoma cervical humano (HeLa) de uma lectina denominada CaL purificada do invertebrado *C. apion* e observaram que a CaL inibe o crescimento de HeLa, além de provocar a apoptose através da ativação da via intrínseca mitocondrial. Além disso, espécimes de *Cinachyrella* já demonstraram atividade citotóxica contra a linhagem celular de linfoma murino L5178Y e a linhagem de células tumorais humanas NCI60 (Mokhlesi *et al.*, 2017a; Oku *et al.*, 2010).

Apesar dessas descobertas, não foram encontrados estudos específicos de *Cinachyrella* que correlacionam a atividade biológica de extratos com a presença e o papel de microrganismos associados, reforçando a escassez e importância de investigações detalhadas. Nesse sentido, Cuvelier e pesquisadores (2014) identificaram mais de 20 filos bacterianos em espécimes de *Cinachyrella* através de análise de sequenciamento, com predominância de Proteobacteria, grupo reconhecido pela capacidade de produzir metabólitos secundários ativos interessantes, incluindo compostos com potencial antitumoral (Taylor *et al.*, 2007). Esses dados comprovam a importância de pesquisas aprofundadas envolvendo esse grupo de esponjas marinhas e seus microrganismos associados.

Clathria é um gênero de esponjas marinhas pertencente à família Microcionidae com o registro de mais de 840 espécies no The World Porifera Database, entre elas, até o momento, apenas doze foram investigadas quimicamente, incluindo *Clathria hirsuta*, *C. gombawuiensis*, *C. cervicornis*, *C. compressa*, *C. araiosa*, *C. prolifera*, *C. calla*, *C. reinwardtii*, *C. lissosclera*, *C. basilana*, *C. strepsitoxa*, *C. pyramida* (El-Demerdash *et al.*, 2018; Woo *et al.*, 2018). Estudos da composição química revelaram a produção de diversas classes de metabólitos secundários, como alcalóides, terpenóides e esteróides, que apresentam atividade citotóxica, antiinflamatória, antifúngica e antibacteriana (Capon *et al.*, 2001; Sperry; Crew, 1996; Zuleta *et al.*, 2002; Ohta *et al.*, 1993; Wei *et al.*, 2011; Dung *et al.*, 2014; Woo *et al.*, 2017; Tatipamula *et al.*, 2019; Mendiola *et al.*, 2014; Chakraborty *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2015; Kalaivani *et al.*, 2017; Tai *et al.*, 2021).

Substâncias alcalóides do tipo crambescidina foram isoladas das esponjas *C. cervicornis* e *C. bulbotoxa* e demonstraram atividade antimicrobiana contra *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* e citotoxicidade contra a linhagem tumoral A431, respectivamente (Sun *et al.*, 2015; El-Demerdash *et al.*, 2016; El-Demerdash *et al.*, 2018). Derivados de batzelladina purificados de *C. calla* apresentaram citotoxicidade contra células cancerígenas de carcinoma de mama (MDA-MB-23), câncer de pulmão de não pequenas células (A549) e câncer de cólon (HT29) (Laville *et al.*, 2009; El-Demerdash *et al.*, 2018). Outros exemplos de metabólitos secundários extraídos da esponja *Clathria* sp. são as amidas bromadas clatrinamidas, elas exibiram atividade citotóxica contra a linhagem celular mielóide humana K562 (Ohta *et al.*, 1993; El-Demerdash *et al.*, 2018). Os compostos da classe dos tiopeptídeos cíclicos, micriocionamidas A e B, foram isolados de *C. abietina* e apresentaram potencial citotoxicidade contra células tumorais mamárias MCF-7 e SKBR-3 (Davis *et al.*, 2004; El-Demerdash *et al.*, 2018). Além disso, microcionamidas A, C e D isoladas de *C. basilana* mostraram citotoxicidade contra células de linfoma (Ramos), de leucemia (HL-60, Nomo-1, Jurkat J16) e de câncer de ovário (A2780) (Mokhlesi *et al.*, 2017b). Sesterterpenos tetracíclicos do grupo dos terpenóides foram estudados a partir da esponja *C. gombawueinsis* quanto à atividade citotóxica *in vitro* contra as linhagens K562 e A549, demonstrando resultados significativos positivos, além de potente atividade antibacteriana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (Woo *et al.*, 2014; El-Demerdash *et al.*, 2018). Em relação aos esteróides, clathsterol foi isolado de *Clathria* sp. e exibiu propriedade antiviral moderada contra HIV-1 (Rudi *et al.*, 2001; El-Demerdash *et al.*, 2018). Composto de cetona isolado de *C. reinwardtii* apresentou efeitos citotóxicos seletivos contra as linhagens humanas de carcinoma

de pulmão (SK-LU-1) e de melanoma (SK-Mel-2), resultando em até 74,4% de porcentagem de morte celular, além de ter sido observado o aumento da ativação da caspase-3, componente importante da apoptose, sugerindo que essa substância induz a morte celular programada (Tai *et al.*, 2021).

Assim como *Cinachyrella*, não foram observados estudos que relacionam a atividade biológica de compostos ativos isolados de *Clathria* com a função de microrganismos associados, nem tampouco alguma publicação sobre a microbiota desses macrorganismos, evidenciando a escassez de pesquisas voltadas a esse contexto.

A esponja do gênero *Coelocarteria* (família Isodictyidae, ordem Poecilosclerida, subordem Mycalina) faz parte de um dos grupos menos estudados quanto à sua composição química e às propriedades biológicas associadas aos compostos bioativos, há poucos e limitados estudos acerca dos seus metabólitos secundários ativos e da sua atividade citotóxica. Em 2006, Fattorusso e colaboradores isolaram, pela primeira vez, dois compostos diterpenos do tipo ent-isocopalane, ácido coelóico e coelodiol, da esponja *C. singaporensis*, que exibiram a capacidade de inibir o crescimento de células de adenocarcinoma gástrico humano (MKN-45) (Fattorusso *et al.*, 2006). Quanto à presença de comunidades microbianas, Ong e colaboradores (2019a) sequenciaram o genoma de uma cepa bacteriana de *Bacillus* sp. isolada da mesma esponja mencionada anteriormente, e relataram uma possível fonte de moléculas antimicrobianas promotoras de *anti-quorum sensing*, ou seja, bloqueadoras do mecanismo de comunicação bacteriano. Dentro desse contexto, é possível inferir que pesquisas de bioprospecção relacionadas a esse grupo de esponjas se caracterizam como um campo promissor que necessita de novas investigações, a fim de contribuir para o conhecimento de Produtos Naturais Marinhos.

Durante o processamento das amostras foram utilizados dois meios de cultura suplementados com solução de cicloheximida, SWA e SCA. A suplementação com cicloheximida tem o objetivo de inibir o crescimento de fungos, evitando o crescimento excessivo e a contaminação em placas incubadas por períodos longos (Webster *et al.*, 2001). O crescimento das colônias de bactérias foi observado apenas no meio SCA. Além disso, as comunidades bacterianas cresceram a partir de ambos métodos de processamento utilizados, 50% proveniente de M4 e 50% de M5.

Somente 1% dos microrganismos existentes na natureza são cultiváveis em laboratório, devido a questões simples, tais como, suplementação incorreta dos nutrientes, pH inadequado

e condições de incubação insuficientes, e complexas do organismo de estudo, como a necessidade de sinais de crescimentos específicos, dependência de outros microrganismos e a formação de microcolônias (Amann *et al.*, 1995; Uria; Zilda, 2016; Kopke *et al.*, 2005; Janssen *et al.*, 2002; Davis *et al.*, 2011; Bruns *et al.*, 2002; Nichols *et al.*, 2008; D’Onofrio *et al.*, 2010; He *et al.*, 2015; Pulschen *et al.*, 2017). As análises metagenômicas podem resolver esses gargalos, permitindo analisar sequências de genoma de bactérias não cultiváveis. Entretanto, características como a morfologia celular, a motilidade e a produção de metabólitos, somente podem ser estudadas adequadamente através de métodos de cultura (Wade, 2002; Vartoukian *et al.*, 2010; Stewart, 2012; Baker *et al.*, 2015).

Pensando nisso, o meio SCA foi escolhido, pois possui características facilitadoras do crescimento rápido e abundante de colônias microbianas. Esse meio também foi utilizado por Choi e colaboradores (2015) para a cultura de bactérias não cultiváveis produtoras de substâncias alcalóides. O amido da composição serve como fonte de carboidrato para o microrganismo e há relatos do seu uso como substrato de biossíntese para alguns compostos, como biossurfactantes lipídicos, promovendo a eficiência da síntese do composto e o crescimento da colônia bacteriana isolada (Abushady *et al.*, 2005; Ing-Lung *et al.*, 2008; Mizumoto *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2012; Koim-Puchowska *et al.*, 2021). A peptona é produto da digestão enzimática de proteínas, sendo rico em peptídeos (Reissbrodt *et al.*, 1995; Koim-Puchowska *et al.*, 2021). O extrato de levedura contém vitaminas do complexo B, nucleosídeos, carboidratos e aminoácidos e, juntamente com o extrato de peptona, serve como fonte de nitrogênio para as bactérias (Tofalo *et al.*, 2016; Koim-Puchowska *et al.*, 2021). Cheng e colaboradores (2018) suplementaram colônias de *Bacillus* com levedura e observaram um aumento de 2% da biomassa bacteriana e maior eficiência na produção de substâncias bioativas. Ademais, utilizou-se água do mar artificial como estratégia para mimetizar o ambiente marinho. Rappé e seu grupo (2002) usaram essa técnica de cultura para cultivar o clado SAR11, microrganismos *Alphaproteobacteria* considerados não cultiváveis, permitindo a caracterização dessas bactérias.

Entretanto, meios ricos em nutrientes possuem a desvantagem de reduzir a produção de metabólitos secundários, enquanto favorecem os metabólitos primários, visto que os primeiros são sintetizados naturalmente em situações desfavoráveis, como em ambientes oligotróficos. Logo, é possível que um método de isolamento diferente do selecionado possa propiciar a formação de outras cepas bacterianas distintas das observadas neste estudo.

Entre o total de 4 extratos orgânicos obtidos a partir dos microrganismos isolados de

Cinachyrella kuekenthali, todos apresentaram atividade antiproliferativa *in vitro* contra a linhagem tumoral de câncer colorretal humano (HCT-116), representando um rendimento expressivo de 100% dos extratos bioativos. O extrato com maior massa foi o da cepa BRA-742.

Esse resultado demonstra-se acima da média dos extratos citotóxicos de culturas de bactérias cadastrados no MicroMarin, que é de 15%. O MicroMarin é um banco de microrganismos do LaBBMar com mais de 1.500 cepas bacterianas de origem marinha isoladas a partir de sedimentos ou associadas a invertebrados, como ascídias, esponjas e corais, encontrados na Amazônia Azul (Silva, 2022). Ademais, no geral, apenas uma pequena porção de extratos ou fracionamentos testados *in vitro* apresentam inibição do crescimento celular, representando 1-5% do total de amostras analisadas (Hassig *et al.*, 2014).

A linhagem celular de câncer colorretal humano HCT-116 se caracteriza por possuir capacidade de proliferação em cultura aderente e sensibilidade a agentes citotóxicos que induzem a apoptose. Devido a essas características e por ser uma linhagem pertencente ao terceiro tipo de câncer mais incidente do mundo, foi utilizada para o ensaio de triagem e de viabilidade celular através do método fenotípico *in vitro* de SRB (Brattain *et al.*, 1983). Além disso, o câncer colorretal é classificado como o terceiro mais incidente do mundo, ficando atrás apenas do câncer de mama e de próstata. Em 2020, foi responsável por 20.245 óbitos no Brasil (Brasil, 2022; INCA, 2020). Dessa forma, o presente trabalho pode contribuir para o avanço na pesquisa farmacológica contra esse tipo de câncer.

O modelo *in vitro* consiste na cultura de linhagens celulares derivadas de organismos multicelulares em placas de cultivo com poços. Possui as vantagens de baixo custo dos insumos, de possibilitar estudos altamente controláveis e mais rápidos do que o método *in vivo*, facilitando a repetição dos experimentos, de permitir ensaios voltados a um alvo específico, como órgãos, além de não necessitar de questões éticas, como o uso de animais (Benfenati *et al.*, 2010; Jubelin *et al.*, 2022). Entretanto, nem todos os sintomas clínicos podem ser reproduzidos. Enquanto que o método *in vivo* possibilita a triagem pré-clínica de medicamentos, porém, é caracterizado pelo alto investimento, pelo tempo dispendioso para obtenção de resultados, e, principalmente, por debates morais e éticos (Guimarães, 2025). Já a técnica *in silico* é utilizada para estudar as propriedades estruturais, físico-químicas, bioquímicas, toxicológicas e farmacológicas de uma molécula, sendo necessário uma prévia purificação e identificação do composto (Guimarães, 2025; Xu *et al.*, 2019).

O ensaio de sulforrodamina B (SRB) foi escolhido para analisar a inibição do

crescimento das células tumorais. É um método fenotípico colorimétrico sensível, rápido e de baixo custo, utilizado para a quantificação de citotoxicidade induzida por compostos ativos. O ensaio é baseado na formação de ligações eletrostáticas do corante aminoxanteno de cor rosa brilhante com resíduos de aminoácidos básicos de proteínas de células fixadas com ácido tricloroacético (TCA), permitindo um sinal estável por longos períodos, de modo que a quantidade de células coloridas é proporcional ao número de células viáveis. Essa medida é analisada quantificando a absorvância por um espectrofotômetro de massas (Voigt, 2005). Além desse método fenotípico, também há o de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT). O MTT tem como princípio a capacidade de atravessar a membrana celular, sendo reduzido a um complexo insolúvel pela enzima NADPH, que é, então, dissolvido por agentes solubilizantes e quantificado em espectrofotômetro (Kamiloglu *et al.*, 2020; Setiawati *et al.*, 2022). Entretanto, a solubilização requer um tempo longo e modificações. Keepers e colaboradores (1991) compararam os dois métodos e perceberam que o SRB possui uma maior sensibilidade, melhor linearidade e alta reprodutibilidade em relação ao MTT, além de não necessitar de um tempo crítico para leitura, visto que é independente da atividade metabólica celular, demonstrando ser mais adequado para ensaios de triagem e de viabilidade celular. Como o resultado da porcentagem de inibição da proliferação celular foi próximo de 100%, considera-se que os extratos apresentaram efeito citotóxico contra a linhagem HCT-116.

Nesse contexto, as amostras avaliadas foram coletadas no Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro, uma Área Marinha Protegida (AMP) de significativa importância ecológica. Trata-se de uma região recifal essencial para a conservação e preservação da biodiversidade, além de atuar como reservatório genético para diversas espécies, incluindo as esponjas e seus microrganismos associados, produtores de variados metabólitos bioativos que são fonte de pesquisas de bioprospecção.

Um relatório da UNESCO, publicado em 2024, indica que 72% das espécies marinhas ameaçadas de extinção encontram refúgio em uma AMP, ressaltando a relevância dessas áreas para a conservação da biodiversidade marinha. Nesse contexto, embora não seja possível determinar uma relação de causa direta, as pressões ecológicas presentes nos ambientes recifais, como poluição, aquecimento oceânico, pesca, entre outros, podem estar relacionadas aos resultados citotóxicos obtidos dos extratos orgânicos isolados neste trabalho, visto que podem favorecer a produção de metabólitos secundários em situações de estresse e de defesa (EPA, 2025).

Apesar dos achados relevantes e promissores, o estudo contém limitações inerentes ao

delineamento exploratório, como o baixo número amostral de extratos testados, demonstrando a necessidade de pesquisas adicionais voltadas, principalmente, à caracterização taxonômica das cepas isoladas e a identificação estrutural dos compostos bioativos obtidos, de modo a consolidar o conhecimento científico acerca da bioprospecção no litoral nordestino.

Dessa forma, os extratos orgânicos isolados neste trabalho demonstraram potencial anticâncer *in vitro*. Estudos futuros acerca da caracterização dos compostos observados, além de análise metabolômica dos microrganismos cultivados, contribuirão para o entendimento das relações ecológicas e da relevância dessas bactérias no Banco do Álvaro, assim como seu potencial para a elaboração de novos fármacos quimioterápicos.

7. CONCLUSÃO

A prospecção de bactérias associadas a esponjas marinhas, coletadas no Parque Estadual Marinho Banco do Álvaro, no litoral do Maranhão, resultou no isolamento de 8 cepas, sendo 4 produtoras de compostos citotóxicos em uma linhagem de câncer de cólon. As 8 cepas bacterianas foram isoladas das espécies *Cinachyrella kuekenthali*, *Clathria nicoleae* e *Coelocarteria amadoi*. Quatro amostras de *Cinachyrella kuekenthali* foram testadas em relação à atividade antiproliferativa e todas apresentaram inibição do crescimento celular *in vitro* próxima a 100% contra a linhagem celular de câncer colorretal humano HCT116.

8. REFERÊNCIAS

ABBAS, Z.; REHMAN, S. An Overview of Cancer Treatment Modalities. **Neoplasms**, v. 1, 19 set. 2018.

ABDELMOHSEN, U. R.; BAYER, K.; HENTSCHEL, U. Diversity, abundance and natural products of marine sponge-associated actinomycetes. **Natural Product Reports**, v. 31, n. 3, p. 381–399, 2014. doi: 10.1039/c3np70111e.

ABUSHADY, H. M.; BASHANDY, A. S.; AZIZ, N. H.; IBRAHIM, H. M. M. Molecular characterization of *Bacillus subtilis* surfactin-producing strain and the factors affecting its production. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 7, p. 337–344, 2005.

ADEGBOYE, M. F.; BABALOLA, O. O. Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 38, p. 4743–4751, 2013.

AGUILAR-CAMACHO, J. M.; DOONAN, L.; MCCORMACK, G. P. Evolution of the main skeleton-forming genes in sponges (Phylum *Porifera*) with special focus on the marine *Haplosclerida* (class *Demospongiae*). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 131, p. 245–253, 2019. doi:10.1016/j.ympev.2018.11.015.

ALONSO-ÁLVAREZ, S.; MUÑOZ-ALONSO, M. J.; GARCÍA-MARTÍNEZ, C.; DOMÍNGUEZ, J. M.; PRADOS, J.; MELGUIZO, C.; *et al.* Plitidepsin: mechanism of action and clinical development as an anticancer agent. **Marine Drugs**, v. 15, n. 11, art. 356, 2017. doi: 10.3390/md15110356.

ALVES, C.; DIEDERICH, M. Marine natural products as anticancer agents. **Marine Drugs**, Basel, v. 19, n. 8, p. 447, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md19080447>. Acesso em: 22 set. 2025.

ALVES, C. *et al.* From marine origin to therapeutics: the antitumor potential of marine algae-derived compounds. **Frontiers in Pharmacology**, Lausanne, v. 9, p. 777, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00777>.

ALZATE, Karen Yadira Velasco. **Potencial anticâncer de bactérias associadas a ascídias, esponjas e sedimentos coletados no Atol das Rocas**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42136/tde-16102019-123021/publico/Karen_Yadira_Velasco_Alzate_Mestrado_Integral_Original.pdf. Acesso em: 27 set. 2025.

AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiological Reviews**, v. 59, n. 1, p. 143–169, 1995. doi: 10.1128/mbr.59.1.143-169.1995.

AMELIA, T. S. M.; SUET MAY, T.; SUABERON, A. C.; MOHD FAHMI, A. D.; SALUDES, J. P.; BHUBALAN, K. *et al.* Recent advances of marine sponge-associated microorganisms as a source of commercially viable natural products. **Marine Biotechnology**, v. 24, p. 492–512, 2022. doi: 10.1007/s10126-022-10130-2.

ANTENEH, Y. S.; YANG, Q.; BROWN, M. H.; FRANCO, C. M. M. Antimicrobial activities of marine sponge-associated bacteria. **Microorganisms**, Basel, v. 9, n. 1, p. 171, 2021. doi: 10.3390/microorganisms9010171.

ASLAM, M. S. *et al.* Side effects of chemotherapy in cancer patients and evaluation of patients opinion about starvation based differential chemotherapy. **Journal of Cancer Therapy**, v. 5, n. 8, p. 817, 2014.

AZMAN, A. S.; OTHMAN, I.; VELU, S. S.; CHAN, K. G.; LEE, L. H. Mangrove rare actinobacteria: taxonomy, natural compounds, and discovery of bioactivity. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, art. 856, 2015. doi: 10.3389/fmicb.2015.00856.

BAKER, B. J.; LAZAR, C. S.; TESKE, A. P.; DICK, G. J. Genomic resolution of linkages in carbon, nitrogen, and sulfur cycling among widespread estuary sediment bacteria. **Microbiome**, v. 3, art. 14, 2015. doi: 10.1186/s40168-015-0077-6.

BARNATHAN, G.; MIRALLES, J.; NJINKOUÉ, J. M.; MANGONI, A.; FATTORUSSO, E.; DEBITUS, C.; BOURY-ESNAULT, N.; KORNPORST, J. M. Sterol composition of three marine sponge species from the genus *Cinachyrella*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 103B, p. 1043–1047, 1992. doi: 10.1016/0305-0491(92)90236-K.

BARNATHAN, G.; MIRALLÈS, J.; GAYDOU, E. M.; BOURY-ESNAULT, N.; KORNPORST, J. M. New phospholipid fatty acids from the marine sponge *Cinachyrella alloclada* Uliczka. **Lipids**, v. 27, p. 779–784, 1992. doi: 10.1007/BF02535849.

BARROS, L. V.; SANTOS, G. G.; PINHEIRO, U. *Clathria* (*Clathria*) Schmidt, 1862 from Brazil with description of a new species and a review of records (Poecilosclerida:

Demospongiae: Porifera). **Zootaxa**, v. 3640, p. 284–295, 2013. doi: 10.11646/zootaxa.3640.2.10.

BAVESTRELLO, G.; ARILLO, A.; CALCINAI, B.; CATTANEO-VIETTI, R.; CERRANO, C.; GAINO, E.; PENNA, A.; SARA, M. Parasitic diatoms inside Antarctic sponges. **Biological Bulletin**, v. 198, p. 29–33, 2000.

BEEPATH, S. S.; JAYASREE, R.; JAYAPRAKASH, N. S.; REMYA, M.; NAMBISAN, B. Screening of actinomycetes from marine sponges for antimicrobial activity. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 6, n. 6, p. 158–164, 2016. doi: 10.7324/JAPS.2016.60625.

BENFENATI, E.; GINI, G.; HOFFMANN, S.; LUTTIK, R. Comparing *in vivo*, *in vitro* and *in silico* methods and integrated strategies for chemical assessment: problems and prospects. **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 38, n. 2, p. 153–166, 2010. doi: 10.1177/026119291003800201.

BERDY, J. Bioactive microbial metabolites. **The Journal of Antibiotics**, v. 58, n. 1, p. 1–26, 2005. doi: 10.1038/ja.2005.1.

BERGMANN, W.; FEENEY, R. J. Contributions to the study of marine products. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 16, p. 981–987, 1951.

BERLINCK, R. G. S.; ANDERSEN, R. J.; ROBERGE, M.; SANGHERA, J.; LEUNG, D.; BRITTON, R. **Granulatimide compounds as G2 checkpoint inhibitors**. Brasil. Patente UBC 98–010. Depósito: 17 mar. 1998. Concessão: 11 out. 1998.

BERNARDI, Darlon I.; *et al.* Produtos naturais marinhos. In: THOMPSON, Fabiano; THOMPSON, Cristiane (org.). **Biotecnologia marinha**. [S. l]: [s. n.], 2020. Disponível em: <https://cienciasdomarbrasil.furg.br/images/livros/LivroBiotecnologia.pdf>. Acesso em: 7 set. 2025.

BERGQUIST, P. R.; HOFHEINZ, W.; OESTERHELT, G. Sterol composition and the classification of the Demospongiae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 8, n. 4, p. 423–435, 1980. doi: 10.1016/0305-1978(80)90045-9.

BERGQUIST, P. R.; BEDFORD, J. J. The incidence of antibacterial activity in marine Demospongiae; systematic and geographic considerations. **Marine Biology**, v. 46, p. 215–221, 1978. doi: 10.1007/BF00390683.

BETTCHER-BRITO, L.; FERNANDEZ, J. C. C.; GASTALDI, M.; BISPO, A.; LEAL, C. V.; LEITE, D.; AVELINO-ALVES, D.; CLERIER, P. H.; REZENDE, D.; GULART, C. M.; PINHEIRO, U.; HAJDU, E. Checklist, diversity descriptors and selected descriptions of a highly diverse intertidal sponge (Porifera) assemblage at Costa do Descobrimento (Bahia, Brazil). **Zootaxa**, v. 5277, n. 3, p. 443–489, 2023. doi: 10.11646/zootaxa.5277.3.2.

BEWLEY, C. A.; FAULKNER, D. J. Lithistid sponges: star performers or hosts to the stars? **Angewandte Chemie International Edition**, v. 37, n. 16, p. 2162–2178, 1998. doi: 10.1002/(SICI)1521-3773(19980904)37:16<2162::AID-ANIE2162>3.0.CO;2-6.

BLUNT, J. W.; CARROLL, A. R.; COPP, B. R.; DAVIS, R. A.; KEYZERS, R. A.; PRINSEP, M. R. Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 34, n. 3, p. 235–294, 2017. doi: 10.1039/c6np00124f.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Informática do SUS. **Painel de Indicadores de Oncologia**. Brasília, DF: Ministério da Saúde. Disponível em: http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/webtabx.exe?PAINEL_ONCO/PAINEL_ONCOLOGIABR.def. Acesso em: 16 set. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico: mortalidade por câncer no Brasil. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/boletins-epidemiologicos>. Acesso em: 24 set. 2025.

BRATTAIN, Michael G.; FINE, W. D.; KHALIFA, A. S.; THOMPSON, J.; BRATTEN, M. E. Characterization of human colon carcinoma cell lines isolated from a single primary tumour. **British Journal of Cancer**, v. 47, n. 3, p. 373–381, 1983. doi: 10.1038/bjc.1983.56.

BRAY, Freddie *et al*, Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, CA: **A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018.

BROWN, Joel S.; AMEND, Sarah R.; AUSTIN, Robert H.; GATENBY, Robert A.;

HAMMARLUND, Emma U.; PIENTA, Kenneth J. Updating the Definition of Cancer. **Molecular Cancer Research**, v. 21, n. 11, p. 1142-1147, 2023. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-23-0411.

BRUNS, A.; CYPIONKA, H.; OVERMANN, J. Cyclic AMP and acyl homoserine lactones increase the cultivation efficiency of heterotrophic bacteria from the Central Baltic Sea. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 8, p. 3978–3987, 2002. doi: 10.1128/aem.68.8.3978-3987.2002.

CAMPAS, C. Diazepinomicin: a marine-derived antitumor compound. **Drugs of the Future**, v. 34, n. 6, p. 457–462, 2009.

CANEDO, L. M.; FERNÁNDEZ-PUENTES, J. L.; BAZ, J. P. New cytotoxic compounds from marine microorganisms. **The Journal of Antibiotics**, v. 53, p. 895–902, 2000.

CÁRDENAS, P.; PÉREZ, T.; BOURY-ESNAULT, N. Sponge systematics facing new challenges. **Advances in Marine Biology**, v. 61, p. 79–209, 2012. doi: 10.1016/B978-0-12-387787-1.00010-6.

CAPON, R. J.; MILLER, M.; ROONEY, F. Mirabilin G: a new alkaloid from a southern Australian marine sponge *Clathria* species. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 5, p. 643–644, 2001. doi: 10.1021/np000635c.

SPERRY, S.; CREWS, P. A novel alkaloid from the Indo-Pacific sponge *Clathria basilana*. **Tetrahedron Letters**, v. 37, n. 14, p. 2389, 1996.

CARTAXO, A. N. S.; COLONELLO, N. A. Desenvolvimento de fármacos oriundos da biotecnologia marinha. In: THOMPSON, F.; THOMPSON, C. (orgs.). **Biotecnologia marinha**. [S. l.]: [s. n.], 2021. p. 683–701. Disponível em: <https://cienciasdomarbrasil.furg.br/images/livros/LivroBiotecnologia.pdf>. Acesso em: 7 set. 2025.

CAVALLI, R. O.; DOMINGUES, E. C.; HAMILTON, S. Desenvolvimento da produção de peixes marinhos em mar aberto no Brasil: possibilidades e desafios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 155–164, 2011.

CAVALLI, Ronaldo Oliveira. Introdução à biotecnologia marinha. In: THOMPSON, Fabiano; THOMPSON, Cristiane (orgs.). **Biotecnologia marinha**. [S. l.]: [s. n.], 2020. cap. 1, p. 19–25. Disponível em: <https://cienciasdomarbrasil.furg.br/images/livros/LivroBiotecnologia.pdf>. Acesso em: 27 set. 2025.

CENTRO DE EXCELÊNCIA PARA O MAR BRASILEIRO (CEMBRA). **Amazônia Azul**. Disponível em: <https://www.cembra.org.br/pt-br/amazul>. Acesso em: 27 jan. 2026.

CHAKRABORTY, K.; FRANCIS, P. Procerolides A–B from Microcionidae marine sponge *Clathria procera*: anti-inflammatory macrocyclic lactones with selective cyclooxygenase-2 attenuation properties. **Bioorganic Chemistry**, v. 109, art. 104663, 2021. doi: 10.1016/j.bioorg.2021.104663.

CHIARELLO, M.; AUGUET, J. C.; GRAHAM, N. A. J. *et al.* Exceptional but vulnerable microbial diversity in coral reef animal surface microbiomes. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 287, e20200642, 2020. doi: 10.1098/rspb.2020.0642.

CHOI, H.; PEREZ, F.; AL-MOURSI, M.; *et al.* Previously uncultured marine bacteria linked to novel alkaloid production. **Chemistry & Biology**, v. 22, n. 9, p. 1–10, 2015. doi: 10.1016/j.chembiol.2015.07.014.

CORTES, J.; SCHÖFFSKI, P.; LITTLEFIELD, B. A. Multiple modes of action of eribulin mesylate: emerging data and clinical implications. **Cancer Treatment Reviews**, v. 70, p. 190–198, 2018. doi: 10.1016/j.ctrv.2018.09.002.

CORTES, J.; TWELVES, C. Impact of the number of prior chemotherapy regimens on outcomes for patients with metastatic breast cancer treated with eribulin: A post hoc pooled analysis. **The Breast Journal**, v. 26, n. 7, p. 1347–1351, 29 nov. 2019.

COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; ALMEIDA, A. M. P.; MORAES, M. O.; LOTUFO, T. M. C. Marine organisms from Brazil as source of potential anticancer agents. **Advances in Phytomedicine**, v. 2, p. 181–196, 2006.

COSTA-LOTUFO, L. V.; COLEPICOLO, P.; PUPO, M. T.; PALMA, M. S. Bioprospecting macroalgae, marine and terrestrial invertebrates & their associated microbiota. **Biota Neotropica**, v. 22, p. e20221345, 2022. doi: 10.1590/1676-0611-BN-2022-1345.

COURA, Márcia Fernandes. **Contribuição ao plano de manejo do Parque Estadual Marinho do Parcel de Manuel Luís/MA: atualização e avanços da unidade após 25 anos**. 2016. 242 f. Dissertação (Mestrado em Gestão e Auditorias Ambientais em Ciência e Tecnologia Marinha) – Fundación Universitaria Iberoamericana, Brasília, 2016.

CUVELIER, M. L.; BLAKE, E.; MULHERON, R.; McCARTHY, P. J.; BLACKWELDER, P.; VEGA THURBER, R. L.; LOPEZ, J. V. Two distinct microbial communities revealed in the sponge *Cinachyrella*. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, art. 581, 2014. doi: 10.3389/fmicb.2014.00581.

DAVIES-BOLORUNDURO, O. F.; ADEKUNLE, A. A.; BOLARINWA, I. F.; OLANIYI, O. O. Anticancer potential of metabolites from marine actinomycetes. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 6, n. 1, p. 13–23, 2019. doi: 10.1016/j.ejbas.2019.01.001.

DAVIS, K. E. R.; SANGWAN, P.; JANSSEN, P. H. Acidobacteria, *Rubrobacteridae* and *Chloroflexi* are abundant among very slow-growing and mini-colony-forming soil bacteria. **Environmental Microbiology**, v. 13, p. 798–805, 2011. doi: 10.1111/j.1462-2920.2010.02384.x.

DAVIS, R.; MANGALINDAN, G.; BOJO, Z.; ANTEMANO, R.; RODRIGUEZ, N.; CONCEPCION, G.; SAMSON, S.; GUZMAN, D.; CRUZ, L.; TASDEMIR, D.; *et al.* Microcionamides A and B, bioactive peptides from the Philippine sponge *Clathria (Thalysias) abietina*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 69, p. 4170–4176, 2004.

DE LAUBENFELS, M. W. Sponges of the western Bahamas. **American Museum Novitates**, n. 1431, p. 1–25, 1949.

DEVITA, V. T.; CHU, E. A history of cancer chemotherapy. **Cancer Research**, v. 68, n. 21, p. 8643-8653, 2008.

DE VOOGD, N. J.; ALVAREZ, B.; BOURY-ESNAULT, N.; CÁRDENAS, P.; DÍAZ, M.-C.; DOHRMANN, M.; ... XAVIER, J. **World Porifera Database**. Disponível em: <https://www.marinespecies.org/porifera>. Acesso em: 16 jan. 2026. doi: 10.14284/359.

D'INCALCI, M. et al. Trabectedin, a drug acting on both cancer cells and the tumour microenvironment. **British Journal of Cancer**, v. 111, n. 4, p. 646–650, 22 abr. 2014.

HIRATA Y., UEMURA D.. Halichondrins—antitumor polyether macrolides from a marine sponge. *Pure Appl Chem* 1986; 58: 701–710.

DI PAOLO, G.; DE CAMILLI, P. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. **Nature**, v. 443, n. 7112, p. 651–657, 2006. doi: 10.1038/nature05185.

D'ONOFRIO, A.; CRAWFORD, J. M.; STEWART, E. J.; WITT, K.; GAVRISH, E.; EPSTEIN, S.; *et al.* Siderophores from neighboring organisms promote the growth of uncultured bacteria. **Chemistry & Biology**, v. 17, p. 254–264, 2010. doi: 10.1016/j.chembiol.2010.02.010.

DORONINA, S. O.; TOKI, B. E.; TORGOV, M. Y.; MENDELSON, B. A.; CERVENY, C. G.; CHACE, D. F.; *et al.* Development of potent monoclonal antibody auristatin conjugates for cancer therapy. **Nature Biotechnology**, v. 21, p. 778–784, 2003. doi: 10.1038/nbt832.

DUNG, D. T.; NGO, V. Q.; YEN, P. H.; *et al.* Steroids from the sponge *Clathria vulpina* and their cytotoxic activities. **Vietnam Journal of Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 559–563, 2014.

EL-DEMERDASH, A.; TAMMAM, M. A.; ATANASOV, A. G.; HOOPER, J. N. A.; AL-MOURABIT, A.; KIJOA, A. Chemistry and biological activities of the marine sponges of the genera *Mycale* (Arenochalina), *Biemna* and *Clathria*. **Marine Drugs**, v. 16, n. 6, art. 214, 2018. doi: 10.3390/md16060214.

EL-DEMERDASH, A.; MORIOU, C.; MARTIN, M. T.; RODRIGUES-STIEN, A.; PETEK, S.; DEMOY-SCHNIDER, M.; HALL, K.; HOOPER, J. N. A.; DEBITUS, C.; AL-MOURABIT, A. Cytotoxic guanidine alkaloids from a French Polynesian *Monanchora* n. sp. sponge. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 1929–1937, 2016.

ENGEL, S.; PAWLIK, J. R. Allelopathic activities of sponge extracts. **Marine Ecology Progress Series**, v. 207, p. 273–281, 2000.

EPA. Threats to coral reefs. U.S. **Environmental Protection Agency**, 2025. Disponível em: <https://www.epa.gov/coral-reefs/threats-coral-reefs>. Acesso em: 30 dez. 2025.

ESTELLER, M. *et al.* Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. **New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 19, p. 1350-1354, 2000.

ESTEVEZ, A. I. S.; COSTA, R. Esponjas marinhas: do mar à farmácia. **Boletim de Biotecnologia**, v. 2, n. 5, p. 31-34, 2014. Disponível em: https://c016222.cdn.sapo.io/1/c016222/imgs/.../biotecnologia_2-5_web.pdf#page=33. Acesso em: 27 jul. 2025.

FAHMY, N. M.; ABDEL-TAWAB, A. M. Isolation and characterization of marine sponge-associated *Streptomyces* sp. NMF6 strain producing secondary metabolite(s) possessing antimicrobial, antioxidant, anticancer, and antiviral activities. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 19, art. 102, 2021. doi: 10.1186/s43141-021-00203-5.

FAULKNER, D. J. Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 18, n. 1, p. 1–49, 2001. doi: 10.1039/b009029h.

FATTORUSSO, E.; ROMANO, A.; TAGLIALETA-SCAFATI, O.; BAVESTRELLO, G.; BONELLI, P.; CALCINAI, B. Coelodiol and coeloic acid, ent-isocopalane diterpenes from the Indonesian sponge *Coelocarteria* *cf.* *singaporensis*. **Tetrahedron Letters**, v. 47, p. 2197–2200, 2006. doi: 10.1016/j.tetlet.2006.01.109.

FERLAY, J. *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal of Cancer**, [S.l.], v. 136, p. E359–E386, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ijc.29210>. Acesso em: 16 set. 2025.

FERNÁNDEZ-CHIMENO, R. I.; HERNÁNDEZ, L. M.; BLANCO, J. A.; BAZ, J. P.; PUENTES, J. L.; MILLÁN, F. R.; VÁZQUEZ, F. E.; GRAVALOS, D. G. IB-96212, a novel cytotoxic macrolide isolated from a marine-derived *Micromonospora* sp. **The Journal of Antibiotics**, v. 53, p. 895–902, 2000.

FREITAS, Alexandre Jeronimo de; MARQUES, Isabela Rocha Gracindo. A dimensão econômica da Amazônia Azul: mensurando o valor da economia do mar do Brasil. **Pesquisa &**

Debate – Revista do Programa de Estudos Pós-Graduados em Economia Política, [S. l.], v. 37, n. 1 (67), p. 58–76, 2025. doi: 10.23925/1806-9029.37i1(67)71950. Disponível em: <https://revistas.pucsp.br/index.php/rpe/article/view/71950>. Acesso em: 27 set. 2025.

FREITAS, V. M.; RANGEL, M.; BISSON, L. F.; JAEGER, R. G.; MACHADO-SANTELLI, G. M. The geodiamolide H, derived from Brazilian sponge *Geodia corticostylifera*, regulates actin cytoskeleton, migration and invasion of breast cancer cells cultured in three-dimensional environment. **Journal of Cellular Physiology**, v. 216, p. 583–594, 2008.

GEBREYOHANNES, G.; MOGES, F.; SAHILE, S.; RAJA, N. Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lake Tana, Ethiopia. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 6, p. 426–435, 2013. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60092-1.

GLUECK, C. J.; *et al.* Titrating Lovaza from 4 to 8 to 12 grams/day in patients with primary hypertriglyceridemia who had triglyceride levels >500 mg/dL despite conventional triglyceride-lowering therapy. **Lipids in Health and Disease**, v. 11, n. 1, art. 143, 2012.

GUIMARÃES, A. I. Are animal models necessary? Exploring (dis)advantages and alternatives. **European Journal of Neuroscience**, v. 61, n. 1, e16651, 2025. doi: 10.1111/ejn.16651.

HAJDU, E.; PEIXINHO, S.; FERNÁNDEZ, J. C. C. **Esponjas marinhas da Bahia: guia de campo e laboratório**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2011. 276 p.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. The hallmarks of cancer. **Cell**, v. 100, n. 1, p. 57–70, 2000. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81683-9. Disponível em: [https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(00\)81683-9?cc=y=_returnURL=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867400816839?showall=true](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(00)81683-9?cc=y=_returnURL=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867400816839?showall=true). Acesso em: 23 jul. 2025.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, 4 mar. 2011. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013. Disponível em: [https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(11\)00127-9?cc=y](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(11)00127-9?cc=y). Acesso em: 23 jul. 2025.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of cancer: new dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31–46, 2022. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.

HASSAN, S. S. U.; SHAIKH, A. L. Marine actinobacteria as a drug treasure house. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 87, p. 46–57, 2017. doi: 10.1016/j.biopha.2016.12.048.

HAYGOOD, M. G.; SCHMIDT, E. W.; DAVIDSON, S. K.; FAULKNER, D. J. Microbial symbionts of marine invertebrates: opportunities for microbial biotechnology. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, v. 1, p. 33–43, 1999.

HE, X.; MCLEAN, J. S.; EDLUND, A.; YOOSEPH, S.; HALL, A. P.; LIU, S.-Y.; *et al.* Cultivation of a human-associated TM7 phylotype reveals a reduced genome and epibiotic parasitic lifestyle. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, p. 244–249, 2015. doi: 10.1073/pnas.1419038112.

HENTSCHEL, U.; FIESELER, L.; WEHRL, M.; GERNERT, C.; STEINERT, M.; HACKER, J.; HORN, M. Microbial diversity of marine sponges. **Progress in Molecular and Subcellular Biology**, v. 37, p. 59–88, 2003.

HERDMAN, W. A. Preliminary report on the Tunicata of the Challenger expedition. Part 2. **Proceedings of the Royal Society of Edinburgh**, v. 10, n. 2, p. 714–726, 1880.

HERNÁNDEZ, L. M.; BLANCO, J. A.; BAZ, J. P.; PUENTES, J. L.; MILLÁN, F. R.; VÁZQUEZ, F. E.; FERNÁNDEZ-CHIMENO, R. I.; GRAVALOS, D. G. IB-96212, a novel cytotoxic macrolide isolated from a marine-derived *Micromonospora* sp. **The Journal of Antibiotics**, v. 53, p. 895–902, 2000.

HOFFMANN, F.; LARSEN, O.; THIEL, V.; RAPP, H. T.; PAPE, T.; MICHAELIS, W.; REITNER, J. An anaerobic world in sponges. **Geomicrobiology Journal**, v. 22, p. 1–10, 2005.

HUMMEL, H.; SEPERS, A. B. J.; DE WOLF, L.; MELISSEN, F. W. Bacterial growth on the marine sponge *Halichondria panicea* induced by reduced waterflow rate. **Marine Ecology Progress Series**, v. 42, p. 195–198, 1988.

IARC. **IARC marks Colorectal Cancer Awareness Month 2025**. 2025. Disponível em: <https://www.iarc.who.int/news-events/iarc-marks-colorectal-cancer-awareness-month-2025/#:~:text=The%20International%20Agency%20for%20Research,of%20colorectal%20cancer%20among%20younger>. Acesso em: 24 dez. 2025.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Atlas de mortalidade por câncer**. Rio de Janeiro: INCA, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/app/mortalidade>. Acesso em: 24 set. 2025.

INDRANINGRAT, A. A. G.; SMIDT, H.; SIPKEMA, D. Bioprospecting sponge-associated microbes for antimicrobial compounds. **Marine Drugs**, v. 14, n. 5, art. 87, 2016. doi: 10.3390/md14050087.

ING-LUNG, S.; CHIA-YU, K.; FENG-CHIA, H.; SUEY-SHENG, K.; CHIENYAN, H. Use of surface response methodology to optimize culture conditions for iturin A production by *Bacillus subtilis* in solid-state fermentation. **Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers**, v. 39, p. 635–643, 2008.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em: 27 set. 2025.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **Global Cancer Observatory: Cancer Today**. Lyon: World Health Organization, 2020. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today>. Acesso em: 16 set. 2025.

IOC-UNESCO. **State of the ocean report 2024**. Paris: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization; Intergovernmental Oceanographic Commission, 2024.

ISAKA, M.; JATURAPAT, A.; KONGSAEREE, P.; THEBTARANONTH, Y. Antimalarial prodigiosins from *Streptomyces* sp. isolated from Thai soil. **The Journal of Antibiotics**, v. 55, n. 5, p. 480–483, 2002.

JANSSEN, P. H.; YATES, P. S.; GRINTON, B. E.; TAYLOR, P. M.; SAIT, M. Improved culturability of soil bacteria and isolation in pure culture of novel soil bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 6, p. 2391–2396, 2002. doi: 10.1128/AEM.68.6.2391-2396.2002.

JIMENEZ, P. C. *et al.* Enriching cancer pharmacology with drugs of marine origin. **British Journal of Pharmacology**, v. 177, n. 1, p. 3–27, 23 dez. 2019.

- JOSE, P. A.; JEBAKUMAR, S. R. D. Phylogenetic diversity of actinomycetes cultured from coastal sediments. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 68, p. 617–627, 2005. doi: 10.1007/s00253-005-1915-3.
- KADOTA, J. Observations on two new species of the genus *Reniera* of monoaxonid sponges. **Zoological Magazine (Tokyo)**, v. 34, p. 700–711, 1922. pls. 20–21. In Japanese.
- KALAIVANI, G.; SIDDHARTHAN, N.; THANGADURAI, G.; POONGOTHAI, E.; THILAGAM, R.; HEMALATHA, N. Antibacterial activity of secondary metabolites from marine sponge (*Clathria indica*) associated bacteria. **Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 11, p. 3888–3893, 2017.
- KAMILOGLU, S.; SARI, G.; OZDAR, T.; CAPANOGLU, E. Guidelines for cell viability assays. **Food Frontiers**, v. 1, n. 3, p. 332–349, 2020. doi: 10.1002/fft2.44.
- KELECOM, A. Marine natural products in Brazil. Part 1. Isolation and structure determination. **Ciência e Cultura**, v. 49, p. 321–330, 1997.
- KEEPERS, Y. P.; PIZAO, P. E.; PETERS, G. J.; VAN ARK-OTTE, J.; WINOGRAD, B.; PINEDO, H. M. Comparison of the sulforhodamine B protein and tetrazolium (MTT) assays for in vitro chemosensitivity testing. **European Journal of Cancer and Clinical Oncology**, v. 27, n. 7, p. 897–900, 1991. doi: 10.1016/0277-5379(91)90142-Z.
- KOIM-PUCHOWSKA, B.; KŁOSOWSKI, G.; DRÓZDŹ-AFELT, J. M.; MIKULSKI, D.; ZIELIŃSKA, A. Influence of the medium composition and the culture conditions on surfactin biosynthesis by a native *Bacillus subtilis* natto BS19 strain. **Molecules**, v. 26, n. 10, art. 2985, 2021. doi: 10.3390/molecules26102985.
- KÖPKE, B.; WILMS, R.; ENGELEN, B.; CYPIONKA, H.; SASS, H. Microbial diversity in coastal subsurface sediments: a cultivation approach using various electron acceptors and substrate gradients. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 12, p. 7819–7830, 2005. doi: 10.1128/aem.71.12.7819-7830.2005.
- KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C. **Robbins & Cotran: Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 269–348.
- KUBANEK, J.; JENSEN, P. R.; KEENEY, K. M.; FAULKNER, D. J.; HAYGOOD, M. G. Role of secondary metabolites in the ecological interactions of marine organisms. **Chemical Reviews**, v. 103, n. 2, p. 467–484, 2003. doi: 10.1021/cr020410u.

- LAUCKNER, G. Diseases of Porifera. In: KINNE, O. (ed.). **Diseases of marine animals**. Chichester: John Wiley & Sons, 1980. v. 1, p. 139–165.
- LAVILLE, R.; THOMAS, O.; BERRUÉ, F.; MARQUEZ, D.; VACELET, J.; AMADE, D. Bioactive guanidine alkaloids from two Caribbean marine sponges. **Journal of Natural Products**, v. 72, p. 1589–1594, 2009.
- LEAL, M. C.; PUGA, J.; SERÔDIO, J.; GOMES, N. C. M.; CALADO, R. Trends in the discovery of new marine natural products from invertebrates over the last two decades: where and what are we bioprospecting? **PLoS One**, v. 7, e30580, 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0030580.
- LI, P.; LU, H.; ZHANG, Y.; ZHANG, X.; LIU, L.; WANG, M.; LIU, L. The natural products discovered in marine sponge-associated microorganisms: structures, activities, and mining strategy. **Frontiers in Marine Science**, v. 10, art. 1191858, 2023. doi: 10.3389/fmars.2023.1191858.
- LI, C. W.; CHEN, J. Y.; HUA, T. Ediacaran sponges from the Lower Doushantuo Formation of South China. **Science**, v. 279, n. 5352, p. 879–882, 1998. doi: 10.1126/science.279.5352.879.
- LI, Y.; LIU, F.; CAI, Q.; DENG, L.; OUYANG, Q.; ZHANG, X. H.-F.; ZHENG, J. Invasion and metastasis in cancer: molecular insights and therapeutic targets. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 10, art. 57, 2025. doi: 10.1038/s41392-025-02148-4.
- LIGHTFOOT, J. **A catalogue of the Portland Museum, lately the property of the Duchess Dowager of Portland, deceased; which will be sold by auction by Mr. Skinner & Co.** London: [s. n.], 1786. viii + 194 p.
- LIU, J. F.; YANG, J.; YANG, S. Z.; YE, R. Q.; MU, B. Z. Effects of different amino acids in culture media on surfactin variants produced by *Bacillus subtilis* TD7. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, p. 2091–2100, 2012.
- LIU, Z.; JENSEN, P. R.; FENICAL, W. A cyclic prodiginine from the marine actinomycete *Saccharopolyspora* sp. **The Journal of Antibiotics**, v. 53, p. 1292–1294, 2000.
- LOSADA, A.; MUÑOZ-ALONSO, M. J.; GARCÍA, C.; SÁNCHEZ-MURCIA, P. A.; MARTÍNEZ-LEAL, J. F.; DOMÍNGUEZ, J. M.; *et al.* Translation elongation factor eEF1A2

is a novel anticancer target for the marine natural product plitidepsin. **Nature Communications**, v. 7, art. 13070, 2016. doi: 10.1038/ncomms13070.

MALDONADO, M.; YOUNG, C. M. Limits on the bathymetric distribution of keratose sponges: a field test in deep water. **Marine Ecology Progress Series**, v. 174, p. 123–139, 1998.

MARANHÃO. Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Naturais. **Plano de manejo do Parque Estadual Marinho do Parcel de Manuel Luís**. São Luís: SEMA, 2021. Disponível em: [https://www.sema.ma.gov.br/uploads/sema/docs/PM_PEMPML_\(VesInternet\).pdf](https://www.sema.ma.gov.br/uploads/sema/docs/PM_PEMPML_(VesInternet).pdf). Acesso em: 27 set. 2025.

MARINHA DO BRASIL. Amazônia Azul. Disponível em: https://www.marinha.mil.br/cgcfm/amazonia_azul. Acesso em: 27 set. 2025.

MARQUES, C. L. T. de Q.; *et al.* **Oncologia: uma abordagem multidisciplinar**. 1. ed. Rio de Janeiro: Carpe Diem, 2015. v. 1.

MARTINS, A. P.; GONÇALVES, V. N.; VIEIRA, M. L. A.; COURA, F. M.; SILVA, G. G. Z.; ROSA, L. H.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; BERLINCK, R. G. S. Marine sponge-associated microorganisms: diversity, bioactivity and biotechnological potential. **Frontiers in Marine Science**, v. 8, p. 1–18, 2021. doi: 10.3389/fmars.2021.683384.

MENDIOLA, J.; REGALADO, E. L.; DÍAZ-GARCIA, A.; *et al.* In vitro antiplasmodial activity, cytotoxicity and chemical profiles of sponge species of Cuban coasts. **Natural Product Research**, v. 28, n. 5, p. 312–317, 2014.

MERVIN, L. H.; CAO, Q.; BARRETT, I. P.; *et al.* Understanding cytotoxicity and cytostaticity in a high-throughput screening collection. **ACS Chemical Biology**, v. 11, p. 3007–3023, 2016. doi: 10.1021/acscchembio.6b00538.

MILNE EDWARDS, H. Observations sur les Ascidies composées des côtes de la Manche. **Mémoires de l'Académie des Sciences de l'Institut de France**, v. 18, p. 217-326, 1841.

MIZUMOTO, S.; HIRAI, M.; SHODA, M. Production of lipopeptide antibiotic iturin A using soybean curd residue cultivated with *Bacillus subtilis* in solid-state fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 72, p. 869–875, 2006.

MOKHLESI, A.; HARTMANN, R.; KURTÁN, T.; WEBER, H.; LIN, W.; CHAIDIR, C.; MÜLLER, W. E. G.; DALETOS, G.; PROKSCH, P. New 2-methoxy acetylenic acids and pyrazole alkaloids from the marine sponge *Cinachyrella* sp. **Marine Drugs**, v. 15, n. 11, art. 356, 2017. doi: 10.3390/md15110356.

MOKHLESI, A.; STUHDREIER, F.; WEX, K. W. *et al.* Cyclic cystine-bridged peptides from the marine sponge *Clathria basilana* induce apoptosis in tumor cells and depolarize the bacterial cytoplasmic membrane. **Journal of Natural Products**, v. 80, n. 11, p. 2941–2952, 2017. doi: 10.1021/acs.jnatprod.7b00477.

MOLINSKI, T. F.; DALISAY, D. S.; LIEVENS, S. L.; SALUDES, J. P. Drug development from marine natural products. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 8, n. 1, p. 69–85, 2009. doi: 10.1038/nrd2487.

MORROW, C.; CÁRDENAS, P. Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera). **Frontiers in Zoology**, v. 12, art. 7, 2015. doi: 10.1186/s12983-015-0099-8.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. *What Is Cancer?* Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>. Acesso em: 16 set. 2025. (cancer.gov)

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020. doi: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629–661, 7 fev. 2016.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 1216–1238, 2004.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products from marine invertebrates and microbes as modulators of antitumor targets. **Current Drug Targets**, v. 7, p. 279–304, 2006.

NICHOLS, D.; LEWIS, K.; ORJALA, J.; MO, S.; ORTENBERG, R.; O’CONNOR, P.; *et al.* Short peptide induces an “uncultivable” microorganism to grow *in vitro*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, p. 4889–4897, 2008. doi: 10.1128/aem.00393-08.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Câncer**. Genebra: OMS, 2025. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/cancer>. Acesso em: 16 set. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Global cancer burden growing, amidst mounting need for services**. Genebra: World Health Organization, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing-amidst-mounting-need-for-services>. Acesso em: 16 set. 2025.

OKU, N.; TAKADA, K.; FULLER, R. W.; WILSON, J. A.; PEACH, M. L.; PANNELL, L. K.; McMAHON, J. B.; GUSTAFSON, K. R. Isolation, structural elucidation, and absolute stereochemistry of Enigmazole A, a cytotoxic phosphomacrolide from the Papua New Guinea marine sponge *Cinachyrella enigmatica*. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 30, p. 10278–10285, 2010. doi: 10.1021/ja1040975.

ONG, J. F. M.; TAN, L. T. Draft genome sequence of *Bacillus* sp. strain 007/AIA-02/001. **Microbiology Resource Announcements**, v. 8, n. 35, e00389-19, 2019. doi: 10.1128/MRA.00389-19.

OHTA, S.; OKADA, H.; KOBAYASHI, H.; OCLARIT, J. M.; IKEGAMI, S. Clathrynamides A, B, and C: novel amides from a marine sponge *Clathria* sp. that inhibit cell division of fertilized starfish eggs. **Tetrahedron Letters**, v. 34, n. 37, p. 5935, 1993.

PEREIRA, F. R. **Metabólitos secundários bioativos e mediadores da relação predador/presa de invertebrados marinhos**. 2011. Tese (Doutorado) — Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

PIEL, J. Metabolites from symbiotic bacteria. **Natural Product Reports**, v. 21, p. 519–538, 2004.

PIMENTEL-ELARDO, S. M.; KOZYTSKA, S.; BUGNI, T. S.; IRELAND, C. M.; MOLINSKI, T. F.; HENTSCHEL, U. Anti-parasitic compounds from sponge-associated actinomycetes. **Marine Drugs**, v. 8, n. 2, p. 373–380, 2010. doi: 10.3390/md8020373

POZA, J.; REGA, M.; PAZ, V.; ALONSO, B.; RODRÍGUEZ, J.; SALVADOR, N.; FERNÁNDEZ, A.; JIMÉNEZ, C. Synthesis and evaluation of new 6-hydroximinosteroid analogs as cytotoxic agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 14, p. 4722–4740, 2007. doi:

PRADO, M. P.; TORRES, Y. R.; BERLINCK, R. G. S.; DESIDERÁ, C.; SANCHEZ, M. A.; CRAVEIRO, M. V.; HAJDU, E.; ROCHA, R. M.; MACHADO-SANTELLI, G. M. Effects of

marine organisms extracts on microtubule integrity and cell cycle progression in cultured cells. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 313, p. 125–137, 2004.

PULSCHEN, A. A.; BENDIA, A. G.; FRICKER, A. D.; PELLIZARI, V. H.; GALANTE, D.; RODRIGUES, F.; *et al.* Isolation of uncultured bacteria from Antarctica using long incubation periods and low nutritional media. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, art. 1346, 2017. doi: 10.3389/fmicb.2017.01346.

RABELO, L.; MONTEIRO, N.; SERQUIZ, R.; SANTOS, P.; OLIVEIRA, R.; OLIVEIRA, A.; ROCHA, H.; MORAIS, A. H.; UCHOA, A.; SANTOS, E. A lactose-binding lectin from the marine sponge *Cinachyrella apion* (CaL) induces cell death in human cervical adenocarcinoma cells. **Marine Drugs**, v. 10, n. 4, p. 727-743, 2012. doi: 10.3390/md10040727.

RANGEL, M.; PRADO, M. P.; KONNO, K.; NAOKI, H.; FREITAS, J. C.; MACHADO-SANTELLI, G. M. Cytoskeleton alterations induced by *Geodia corticostylifera* depsipeptides in breast cancer cells. **Peptides**, v. 27, p. 2047–2057, 2006.

RAPPÉ, M. S.; CONNON, S. A.; VERGIN, K. L.; GIOVANNONI, S. J. Cultivation of the ubiquitous SAR11 marine bacterioplankton clade. **Nature**, v. 418, p. 630–633, 2002. doi: 10.1038/nature00917.

REISSBRODT, R.; BEER, W.; MÜLLER, R.; CLAUS, H. Characterization of casein peptones by HPLC profiles and microbiological growth parameters. **Acta Biotechnologica**, v. 15, p. 223–232, 1995.

REISWIG, H. M. Particle feeding in natural populations of three marine demosponges. **Biological Bulletin**, v. 141, p. 568–591, 1971.

REISWIG, H. M. Bacteria as food for temperate-water marine sponges. **Canadian Journal of Zoology**, v. 53, p. 582–589, 1975.

RETNOWATI, Y. Actinomycetes as a source of bioactive compounds. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v. 19, n. 4, p. 1473–1480, 2018. doi: 10.13057/biodiv/d190434.

RIBEIRO, Fabianne; COSTA-LOTUFO, Leticia; LOUREIRO, Susana; PAVLAKI, Maria D. Environmental Hazard of Anticancer Drugs: State of the Art and Future Perspective for Marine Organisms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 41, n. 8, p. 1793-1807, 2022. doi: 10.1002/etc.5397.

RINEHART, K. L. Antitumor compounds from tunicates. **Medicinal Research Reviews**, v.

20, n. 1, p. 1–27, 2000. doi:10.1002/(sici)1098-1128(200001)20:1<1::aid-med1>3.0.co;2-a.

ROBERGE, M.; BERLINCK, R. G. S.; XU, L.; ANDERSON, H.; LIM, L. Y.; CURMAN, D.; STRINGER, C. M.; FRIEND, S. H.; DAVIES, P.; VINCENT, I.; HAGGARTY, S. J.; KELLY, M. T.; BRITTON, R.; PIERS, E.; ANDERSEN, R. J. High throughput assay for G2 checkpoint inhibitors and identification of the structurally novel compound isogranulatimide. **Cancer Research**, v. 58, p. 5701–5706, 1998.

RODGERS, G. M.; *et al.* Cancer- and chemotherapy-induced anemia. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, v. 10, n. 5, p. 628–653, 2012.

RUDI, A.; YOSIEF, T.; LOYA, S.; HIZI, A.; SCHLEYER, M.; KASHMAN, Y. Clathsterol, a novel anti-HIV-1 RT sulfated sterol from the sponge *Clathria* species. **Journal of Natural Products**, v. 64, p. 1451–1453, 2001.

RYAN, J. F.; PANG, K.; SCHNITZLER, C. E.; NGUYEN, A.-D.; MORELAND, R. T.; SIMMONS, D. K.; KOENIGSBERG, L. R.; HAYGOOD, M. G.; GOULDING, M. Q.; NESNIDAL, M. P.; *et al.* The genome of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi* and its implications for cell type evolution. **Science**, v. 342, n. 6164, p. 1242592, 2013. doi: 10.1126/science.1242592.

SANGKANU, S.; RUKACHON, S.; PHONGPAICHIT, S.; SAKAYAROJ, J. Antimicrobial and anticancer activities of marine actinomycetes. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 11, n. 2, p. 1–11, 2021. doi: 10.7324/JAPS.2021.110201.

SANTOS, M. de O.; LIMA, F. C. da S. de; MARTINS, L. F. L.; OLIVEIRA, J. F. P.; ALMEIDA, L. M. de; CANCELA, M. de C. Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [S. l.], v. 69, n. 1, p. e-213700, 2023. doi:10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/3700>. Acesso em: 16 set. 2025.

SELVIN, J.; NINAWA, A. S.; KIRAN, G. S.; LIPTON, A. P. Sponge-associated marine microorganisms: an untapped source of bioactive metabolites. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 82–90, 2010. doi: 10.3109/10408410903358284.

SENER, P. D.; SIEVERS, E. L. The discovery and development of brentuximab vedotin for use in relapsed Hodgkin lymphoma and systemic anaplastic large cell lymphoma. **Nature Biotechnology**, v. 30, p. 631–637, 2012. doi: 10.1038/nbt.2287.

SETIAWATI, A.; CANDRASARI, D. S.; SETYAJATI, F. D. E.; PRASETYO, V. K.; SETYANINGSIH, D.; HARTINI, Y. S. Anticancer drug screening of natural products: *in vitro* cytotoxicity assays, techniques, and challenges. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 12, n. 7, p. 279–289, 2022. doi: 10.4103/2221-1691.350176.

SHAMIKH, Y. I.; ALI, A. J.; AL-ASSADI, M. J.; ALI, M. J. Antimicrobial and cytotoxic activities of actinomycetes isolated from marine sponges. **Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries**, v. 24, n. 6, p. 287–300, 2020. doi: 10.21608/ejabf.2020.119095.

SILVA, J. Y. G. **Isolamento e avaliação da atividade citotóxica de bactérias marinhas associadas a esponjas do litoral do Ceará.** 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/68744/3/2022_tcc_jygsilva.pdf. Acesso em: 12 jan. 2026.

SILVEIRA, P. C. A. da; OLIVEIRA, V. M. de. **Estudo dos organismos do recife de corais do Parcel de Manoel Luís, Banco do Álvaro e Banco do Tarol no Estado do Maranhão.** São Luís, MA: Secretaria de Estado do Meio Ambiente (SEMA), 1998. 11 p. Relatório interno CPE/SEMA. Convênio n. 003/97 MMA/SCA–SEMA.

SIPKEMA, D.; FRANSSSEN, M. C. R.; OSINGA, R.; TRAMPER, J.; WIJFFELS, R. H. Marine sponges as pharmacy. **Marine Biotechnology**, v. 7, p. 142–162, 2005.

SIMON, Jean-Christophe; *et al.* Host-microbiota interactions: from holobiont theory to analysis. **Microbiome**, v. 7, n. 1, art. 5, 2019. doi: 10.1186/s40168-019-0778-2.

SPERRY, S.; CREWS, P. A novel alkaloid from the Indo-Pacific sponge *Clathria basilana*. **Tetrahedron Letters**, v. 37, p. 2389–2390, 1996.

STEWART, E. J. Growing unculturable bacteria. **Journal of Bacteriology**, v. 194, p. 4151–4160, 2012. doi: 10.1128/jb.00345-12.

SUBRAMANI, R.; SIPKEMA, D. Marine rare actinomycetes: a promising source of structurally diverse and unique novel natural products. **Marine Drugs**, v. 17, n. 5, art. 249, 2019. doi: 10.3390/md17050249.

SUN, X.; SUN, S.; FERENGE, C.; *et al.* A potent antimicrobial compound isolated from *Clathria cervicornis*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 1, p. 67–69, 2015. doi: 10.1016/j.bmcl.2014.10.083.

TAI, B. H.; HANG, D. T.; TRANG, D. T.; YEN, P. H.; *et al.* Conjugated polyene ketones from the marine sponge *Clathria (Thalysias) reinwardti* (Vosmaer, 1880) and their cytotoxic activity. **Journal of Natural Science and Technology**, v. ?, p. ?–?, 2021. doi: 10.1177/1934578x211043732.

TATIPAMULA, V. B.; KILLARI, K. N.; PRASAD, K.; *et al.* Cytotoxicity studies of the chemical constituents from marine algae *Chara baltica*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, n. 5, p. 815–823, 2019.

TAYLOR, M. W.; RADAX, R.; STEGER, D.; WAGNER, M. Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 71, n. 2, p. 295–347, 2007. doi: 10.1128/MMBR.00040-06.

THAKUR, N. L.; HENTSCHEL, U.; KRASKO, A.; *et al.* Antibacterial activity of the sponge *Suberites domuncula* and its primmorphs: potential basis for epibacterial chemical defense. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 31, p. 77–83, 2003.

THOMAS, T.; MOITINHO-SILVA, L.; LURGI, M.; *et al.* Diversity, structure and convergent evolution of the global sponge microbiome. **Nature Communications**, v. 7, art. 11870, 2016. doi: 10.1038/ncomms11870.

TIWARI, K.; GUPTA, R. K. Rare actinomycetes: a potential storehouse for novel antibiotics. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 33, n. 2, p. 108–132, 2013. doi: 10.3109/07388551.2012.679973.

TOFALO, R.; SUZZI, G. Yeasts. In: CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. (eds.). **The encyclopedia of food and health**. 1. ed. Oxford: Academic Press, 2016. v. 1, p. 593–599.

TORRES, Y. R.; BERLINCK, R. G. S.; MAGALHÃES, A.; SCHEFER, A. B.; FERREIRA, A. G.; HAJDU, E.; MURICY, G. Arenosclerins A–C and haliclonyclamine E, new tetracyclic alkaloids from a Brazilian endemic haplosclerid sponge *Arenosclera brasiliensis*. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1098–1105, 2000.

TURSCH, B.; BARRETO, H.; SHARAPIN, N. Occurrence of cholesterol in *Renilla reniformis* and *Echinometra lucunter*. **Bulletin de la Société Chimique de Belgique**, v. 72, p. 807–808, 1963.

TURON, M.; BOVERI, M.; SANTANA, M.; URIZ, M. J. Exploring the sponge microbiome for natural products discovery. **Marine Drugs**, v. 16, n. 6, art. 214, 2018. doi: 10.3390/md16060214.

ULICZKA, E. Beitrag zur Kenntnis der Spongienfauna der Adria. **Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik, Ökologie und Geographie der Tiere**, v. 56, p. 1–48, 1929.

ULRICH, A. S. Biological roles of phosphatidylserine. **Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes**, v. 1838, n. 6, p. 1543–1548, 2014. doi: 10.1016/j.bbamem.2014.02.033.

URIA, A. R.; ZILDA, D. S. Metagenomics-guided mining of commercially useful biocatalysts from marine microorganisms. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 78, p. 1–26, 2016. doi: 10.1016/bs.afnr.2016.05.001.

USHER, K. M.; FROMONT, J.; SUTTON, D. C.; TOZE, S. The biogeography and phylogeny of unicellular cyanobacterial symbionts in sponges from Australia and the Mediterranean. **Microbial Ecology**, v. 48, p. 167–177, 2004.

VANCE, J. E. Phospholipid synthesis and transport in mammalian cells. **Traffic**, v. 16, n. 1, p. 1–18, 2015. doi: 10.1111/tra.12230.

VAN MEER, G.; VOELKER, D. R.; FEIGENSON, G. W. Membrane lipids: where they are and how they behave. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 2008.

VAN SOEST, R. W. M.; BOURY-ESNAULT, N.; HOOPER, J. N. A.; RÜTZLER, K.; DE VOOGD, N. J.; ALVAREZ DE GLASBY, B.; HAJDU, E.; PISERA, A. B.; MANCONI, R.; SCHOENBERG, C.; KLAUTAU, M.; PICTON, B.; KELLY, M.; VACELET, J.; DOHRMANN, M.; DÍAZ, M.-C.; CARDENAS, P.; CARBALLO, J. L.; RÍOS LÓPEZ, P. **World Porifera Database**. Disponível em: <https://www.marinespecies.org/porifera>. Acesso em: 2 jan. 2026.

VARTOUKIAN, S. R.; PALMER, R. M.; WADE, W. G. Strategies for culture of “unculturable” bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, v. 309, p. 1–7, 2010. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.02000.x.

VELASCO-ALZATE, K. Y.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; BERLINCK, R. G. S. Marine bacteria from Rocas Atoll as a rich source of pharmacologically active compounds. **Marine Drugs**, v. 17, n. 12, p. 1–16, 2019. doi: 10.3390/md17120671.

VICENTE, J.; STEWART, A.; SONG, B.; HILL, R.; WRIGHT, J. Biodiversity of actinomycetes associated with the marine sponge *Hymeniacidon perlevis* from the Great Barrier Reef. **Marine Biotechnology**, v. 15, p. 413–424, 2013. doi: 10.1007/s10126-013-9490-1.

VICHAJ, V.; KIRTIKARA, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. **Nature Protocols**, v. 1, n. 3, p. 1112–1116, 2006. doi: 10.1038/nprot.2006.179.

VOIGT, W. Sulforhodamine B assay and chemosensitivity. **Methods in Molecular Medicine**, v. 110, p. 39–48, 2005. doi: 10.1385/1-59259-869-2:039.

WADE, W. Unculturable bacteria – the uncharacterized organisms that cause oral infections. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 95, p. 81–83, 2002.

WANG, G. Diversity and biotechnological potential of the sponge-associated microbial consortia. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 33, p. 545–551, 2006.

WEBSTER, N. S.; HILL, R. T. The culturable microbial community of the Great Barrier Reef sponge *Rhopaloeides odorabile* is dominated by an α -proteobacterium. **Marine Biology**, v. 138, p. 843–851, 2001.

WEBSTER, N. S.; WILSON, K. J.; BLACKALL, L. L.; HILL, R. T.; TOLEDO-ARANA, A.; VALLE, J.; SOLANO, C.; ARRIZUBIETA, M. J.; CUCARELLA, C.; LAMATA, M.; *et al.* Phylogenetic diversity of bacteria associated with the marine sponge *Rhopaloeides odorabile*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 10, p. 4538–4545, 2001. doi: 10.1128/AEM.67.10.4538-4545.2001.

WEI, X.; HENRIKSEN, N. M.; SKALICKY, J. J.; *et al.* Araisosamines A–D: tris-bromoindole cyclic guanidine alkaloids from the marine sponge *Clathria (Thalysias) araiosa*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 76, n. 14, p. 5515–5523, 2011. doi: 10.1021/jo2005898.

WEI, X.; ZHOU, L.; SUN, Y.; SONG, J.; WANG, J.; WANG, J.; ZHANG, C.; LIU, Z. Lobophorins C and D, new kijanimicin derivatives from a marine sponge-associated *Streptomyces carnosus* strain AZS17. **The Journal of Antibiotics**, v. 64, p. 497–501, 2011. doi: 10.1038/ja.2011.33.

WICKE, C.; HÜNERS, M.; WRAY, V.; NIMTZ, M.; BILITEWSKI, U.; LANG, S. A novel bioactive compound produced by a marine sponge-associated bacterium. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 621–626, 2000.

WILKE, Diego V.; JIMENEZ, Paula C.; BRANCO, Paola C.; REZENDE-TEIXEIRA, Paula; TRINDADE-SILVA, Amaro E.; BAUERMEISTER, Anelize; LOPES, Norberto Peporine; COSTA-LOTUFO, Leticia V. Anticancer potential of compounds from the Brazilian Blue Amazon. **Planta Medica**, v. 87, n. 1/2, p. 49–70, 2021. doi: 10.1055/a-1257-8402.

WILKINSON, C. R. Net primary productivity in coral reef sponges. **Science**, v. 219, p. 410–412, 1983.

WILKINSON, C. R. Symbiotic interactions between marine sponges and algae. In: REISSER, W. (ed.). **Algae and symbioses: plants, animals, fungi, viruses, interactions explored**. Bristol: Biopress Limited, 1992. p. 111–151.

WOO, S. Y.; WIN, N. N.; WONG, C. P.; ITO, T.; HOSHINO, S.; NGWE, H.; AYE, A. A.; HAN, N. M.; ZHANG, H.; HAYASHI, F.; ABE, I.; MORITA, H. Two new pyrrolo-2-aminoimidazoles from a Myanmarese marine sponge, *Clathria prolifera*. **Journal of Natural Medicines**, v. 72, p. 803–807, 2018. doi: 10.1007/s11418-018-1205-y.

WOO, J. K.; HA, T. K. Q.; OH, D. C.; OH, W. K.; OH, K. B.; SHIN, J. Polyoxygenated steroids from the sponge *Clathria gombawuiensis*. **Journal of Natural Products**, v. 80, n. 12, p. 3224–3233, 2017. doi: 10.1021/acs.jnatprod.7b00646.

WOO, J.; KIM, C.; KIM, S.; KIM, H.; OH, D.; OH, K.; SHIN, J. Gombaspiroketal A–C sesterterpenes from the sponge *Clathria gombawuiensis*. **Organic Letters**, v. 16, p. 2826–2829, 2014.

XU, M.; EIRIKSSON, F. F.; THORSTEINSDOTTIR, M.; HEIDMARSSON, S.; OMARSDOTTIR, S.; OLAFSDOTTIR, E. S. Alkaloid fingerprinting resolves *Huperzia selago* genotypes in Iceland. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 83, p. 77–82, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2019.01.009>.

YANG, Q.; FRANCO, C. M. M.; SOROKIN, S. J.; ZHANG, W. Development of a multilocus-based approach for sponge (phylum Porifera) identification: refinement and limitations. **Scientific Reports**, v. 7, art. n° 41422, 2017. doi: 10.1038/srep41422

YANG, L.; PANG, Y.; MOSES, H. L. TGF-beta and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression. **Trends in Immunology**, v. 31, p. 220–227, 2010.

ZAHWA, K. D.; *et al.* Identification and initial testing of anticancer compounds from marine sponge extract *Clathria* sp. from Padamarang Island, Kolaka Regency. **BIO Web of Conferences**, v. 19, art. 03006, 2025. doi: 10.1051/bioconf/202519203006.

ZHANG, H.; LEE, Y. K.; ZHANG, W.; LEE, H. K. Culturable bacterial communities associated with marine sponges. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 90, p. 159–169, 2006.

ZULETA, I. A.; VITELLI, M. L.; BAGGIO, R.; GARLAND, M. T.; SELDES, A. M.; PALERMO, J. A. Novel pteridine alkaloids from the sponge *Clathria* sp. **Tetrahedron**, v. 58, n. 22, p. 4481–4486, 2002.

ZUMBERGE, J. A.; LOVE, G. D.; CÁRDENAS, P.; SPERRY, J.; GROSJEAN, E.; SUMMONS, R. E. Demosponge steroid biomarkers from the Neoproterozoic suggest an early rise of sponges in the Cryogenian. **Nature Ecology & Evolution**, v. 2, p. 1709–1714, 2018. doi: 10.1038/s41559-018-0676-2.