



Uso potencial de pigmentos bacterianos como drogas anticâncer e toxicidade reprodutiva feminina: uma revisão

Potential use of bacterial pigments as anticancer drugs and female reproductive toxicity: a review

André Luiz da Conceição Santos^{1*} , Anna Clara Accioly Ferreira¹ , José Ricardo de Figueiredo¹ 

¹Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, Ceará, Brasil

*Correspondente: andreconceicao.mv@gmail.com

Resumo

Os compostos bioativos naturais obtidos de microrganismos têm despertado especial interesse da indústria nos últimos anos. Esta atenção ocorre em um momento em que o esgotamento de recursos naturais é pronunciado, e a aquisição de novos insumos e produtos bioativos de origem vegetal representa um desafio para as próximas gerações. Neste sentido, a prospecção para a produção e uso em larga escala dos pigmentos bacterianos tem representado uma importante estratégia para o desenvolvimento de novos produtos. Uma grande variedade de propriedades foi atribuída a estas substâncias, entre elas, o potencial terapêutico contra doenças importantes, como o câncer. Existe um consenso de que os protocolos quimioterápicos disponíveis são conhecidos por afetarem negativamente a fertilidade de pacientes com câncer. Grande parte dos efeitos deletérios da quimioterapia está relacionado à citotoxicidade das drogas usadas para este fim, que além das células cancerosas, afetam as células normais. Nesse sentido, as propriedades naturais atribuídas aos pigmentos bacterianos associadas à baixa citotoxicidade e relevante seletividade, os qualificaram como potenciais drogas anticâncer. No entanto, pouco se tem de informação a respeito da toxicidade reprodutiva destes novos e promissores compostos. Dessa forma, a presente revisão tem o objetivo de abordar os principais pigmentos bacterianos, suas utilizações potenciais como drogas anticâncer, bem como os seus possíveis efeitos tóxicos, sobretudo, sobre a gônada feminina.

Palavras-chave: câncer; quimioterapia; fertilidade; compostos bioativos; bactéria

Abstract

Natural bioactive compounds obtained from microorganisms have awakened particular interest in the industry in recent years. This attention comes when the depletion of natural resources is pronounced, and the acquisition of new inputs and bioactive products of plant origin represents a challenge for the next generations. In this sense, prospecting for the large-scale production and use of bacterial pigments has represented a necessary strategy for the development of novel products. A wide variety of properties have been attributed to these substances, among them, the therapeutic potential against important diseases, such as cancer. There is consensus that available chemotherapy protocols are known to detrimentally affect the fertility of cancer patients. A considerable part of the deleterious effects of chemotherapy is related to the cytotoxicity of the drugs used for this purpose, which, in addition to cancer cells, affect normal cells. In this sense, the intrinsic properties attributed to bacterial pigments associated with low cytotoxicity and relevant cell selectivity certified them as potential anticancer drugs. However, little information is available about the reproductive toxicity of these new and promising compounds. Thus, the present review aims to address the main bacterial pigments, their potential uses as anticancer drugs, and their possible toxic effects, especially on the female gonad.

Keywords: cancer; chemotherapy; fertility; bioactive compounds; bacteria

Recebido : 30 de maio de 2022. Aceito: 22 de agosto de 2022. Publicado: 21 de setembro de 2022.



Introdução

O ovário mamífero, assim como quaisquer órgãos que compõem um organismo, está continuamente sujeito ao efeito de diversos fatores citotóxicos que podem vir a afetar e, conseqüentemente, modificar suas funções biológicas. Uma das principais conseqüências da exposição contínua dos ovários a agentes citotóxicos é a insuficiência ovariana prematura [IOP^(1,2)]. A IOP pode ser a conseqüência direta e o principal efeito colateral dos quimioterápicos atualmente utilizados para o tratamento do câncer⁽³⁾.

A lesão ovariana, com conseqüente infertilidade permanente, é um dos efeitos colaterais mais comuns que ocorre durante o tratamento quimioterápico em mulheres acometidas por certos tipos de câncer como, por exemplo, o linfoma de Hodgkin⁽⁴⁾. Visando mitigar os efeitos danosos dos quimioterápicos sobre a fertilidade feminina, estudos têm investigado o efeito de diversas substâncias com potencial atividade anticâncer, incluindo compostos naturais bioativos com baixa citotoxicidade e ação quimioprotetora, tais como o resveratrol⁽⁵⁾; licopeno⁽⁶⁻⁹⁾; extrato de erva doce⁽¹⁰⁾; melatonina^(11,12), entre outros.

Os compostos naturais bioativos podem ser extraídos de fontes de origem vegetal e animal⁽¹³⁾. No entanto, atualmente, os microrganismos representam as mais importantes e promissoras fontes destes compostos^(14,15). Os compostos naturais bioativos apresentam uma variedade de propriedades terapêuticas, que podem ser exploradas como uma alternativa ao uso de quimioterápicos altamente citotóxicos ou como adjuvantes aos quimioterápicos. Os microrganismos (fungos e bactérias) são importantes fontes de compostos bioativos com atividade anticâncer⁽¹³⁻¹⁵⁾, sendo exímios produtores de pigmentos [piocianina^(16,17); prodigiosina^(18,19); carotenóides^(20,21)]. Os pigmentos produzidos por microrganismos, e mais especificamente por bactérias, podem colaborar para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas no tratamento do câncer e/ou na preservação da fertilidade feminina. Assim, este trabalho tem como objetivo abordar os principais pigmentos bacterianos, suas utilizações potenciais como drogas anticâncer bem como seus possíveis efeitos tóxicos sobre o aparelho reprodutor feminino.

Quimioterápicos e mecanismos de ação anticâncer

Quimioterápico é como são denominadas as drogas comumente usadas nos protocolos terapêuticos para o tratamento dos mais variados tipos de câncer. Os quimioterápicos são, geralmente, substâncias semissintéticas ou sintéticas de diversas origens, tais como plantas e microrganismos⁽²²⁾. Atualmente, existem quatro classes de agentes anticâncer derivados de plantas, a saber: alcalóides da vinca (vincristina, vimblastina e vindesina), epidopofilotoxinas (etoposídeo e tenoposídeo), taxanos (paclitaxel e docetaxel) e derivados da camptotecina [camptotecina e irinotecano⁽²³⁾]. Outros quimioterápicos derivados de antraciclina, oriundas de microrganismos, como a doxorubicina (DOX), por exemplo, são altamente

eficazes no tratamento de diversos tipos de tumores⁽²⁴⁾. Estas drogas, no entanto, apresentam alto grau de toxicidade para células não cancerosas, visto que os mecanismos de ação dos quimioterápicos não são seletivos e causam também a depleção de células normais, principalmente aquelas com alto grau de atividade proliferativa^(25,26).

Especificamente com respeito ao trato reprodutivo, drogas como a DOX, causam danos induzidos por apoptose sobre a reserva de folículos primordiais, induzindo a quebra de cadeias de dupla fita do DNA e causando morte celular estromal, bem como danos microvasculares que induzem hipóxia tecidual, contribuindo para a perda precoce de folículos ovarianos⁽²⁷⁾. Já outros quimioterápicos, como a ciclofosfamida, são metabolizados no fígado e transformados em metabólitos alquilantes ativos⁽¹⁰⁾. Estes metabólitos induzem a ativação de isoformas DNAPK - γ H2AX-*checkpoint* quinase 2 (CHK2), p53/TAp63 α , proteína quinase B (AKT) e *forkhead box* O3 (FOXO3a) no núcleo dos oócitos. Tais proteínas estão envolvidas no dano e reparo do DNA e nos processos de apoptose e autofagia celular⁽²⁸⁾. A tabela 1 apresenta os principais mecanismos e a gonadotoxicidade dos principais quimioterápicos.

Tabela 1. Principais classes de quimioterápicos, mecanismos de ação anticâncer e gonadotoxicidade

Classe dos quimioterápicos	Fármacos	Mecanismo de ação	Gonadotoxicidade
Agentes Alquilantes	Carboplatina	Impedem a divisão celular por meio da ligação cruzada de fitas de DNA. Sua atividade não depende da síntese de DNA nas células-alvo. A ciclofosfamida, também inibe a síntese de DNA	Induzem quebras de fita dupla em oócitos; Dano ao DNA que interfere com a transcrição e replicação celular, levando a morte do oócito
	Cisplatina		
	Oxaliplatina		
	Ciclofosfamida		
	Ifosfamida		
	Altretamina		
Antimetabólitos	5-Fluorouracil	Inibem os processos metabólicos necessários para a síntese de purinas, pirimidinas e ácidos nucleicos	Risco gonadotóxico baixo
	Metotrexato		
	Capecitabina		
	Gencitabina		
	Pemetrexed		
Antibióticos antitumor	Dactinomicina	Atuam via intercalação do DNA, interferindo a síntese de ácidos nucleicos	Regulam positivamente a proteína p53 que induz apoptose; quebras de dupla fita de DNA levando à ativação de ATM, que inicia apoptose
	Bleomicina		
	Doxorrubicina		
Alcalóides Vinca	Vimblastina	Atuam alterando a montagem, desmontagem e estabilização normais dos microtúbulos	Risco gonadotóxico baixo
	Vincristina		
	Vinorelbina		
Taxanos	Paclitaxel		Risco gonadotóxico baixo e transitório
	Docetaxel		
Epipodofilotoxina	Etoposídeo		Risco gonadotóxico baixo em não gestantes
Epotilona	Ixabepilona		N/A
	Topotecano		N/A
	Análogos de Camptotecina	Irinotecano	Inibem a topoisomerase I, induzindo quebras de DNA de fita simples

Fonte: Adaptado⁽²⁹⁻³³⁾

Citotoxicidade dos quimioterápicos no sistema reprodutor feminino

Dentre as estruturas que compõem o sistema reprodutor feminino, os folículos ovarianos e seus respectivos oócitos são altamente sensíveis aos efeitos deletérios dos quimioterápicos, que por sua vez aceleram a atresia folicular e promovem o esgotamento da reserva ovariana⁽³⁴⁾. O efeito gonadotóxico dos quimioterápicos pode ocorrer em virtude de três fatores conhecidos: 1- devido a falhas nos mecanismos de dano e reparo do DNA. Estas falhas resultam na ativação da proteína Tap 73, um modulador p53 regulado positivamente na apoptose, que também ativa a proteína pró-apoptótica p63. Tap 73 e p53, por sua vez, recrutam e ativam as proteínas pró-apoptóticas Bax e Bak, induzindo a apoptose⁽³³⁾; 2- efeito “*Burnout*” - causa destruição dos folículos/esgotamento da reserva folicular por meio da redução da secreção do hormônio anti-mulleriano (AMH) que, em síntese, inibe a ativação e conseqüentemente o recrutamento dos folículos primordiais^(34,35). Assim, a redução dos níveis de AMH na corrente sanguínea culmina por amplificar a ativação e depleção folicular⁽³⁶⁾; 3- promoção de danos vasculares à nível arterial ovariano. Estudos demonstraram que quimioterápicos como a DOX induzem danos vasculares⁽³⁷⁾. Este efeito é refletido por uma queda do fluxo arterial ovariano, que induz hipóxia e atrofia ovariana acompanhada de fibrose cortical, perda folicular e redução significativa da função ovariana e, por conseqüente, da função reprodutiva⁽³⁸⁾. A redução precoce da função ovariana em decorrência do uso de quimioterápicos para o tratamento do câncer pode caracterizar a insuficiência ovariana prematura em pacientes oncológicos.

IOP e uso de animais como modelos para o estudo de distúrbios reprodutivos

A IOP afeta aproximadamente 1% das mulheres com menos de 40 anos de idade, sendo a causa primária de distúrbios reprodutivos, tais como: anovulação e hipostrogenismo, amenorreia primária ou secundária, infertilidade, deficiência de esteróides sexuais e elevação de gonadotrofinas⁽³⁹⁾. O surgimento da IOP geralmente é idiopático⁽⁴⁰⁾. No entanto, diversos mecanismos não fisiológicos podem estar associados ao seu desenvolvimento, o que pode incluir distúrbios genéticos, autossômicos, autoimune, metabólicos e doenças infecciosas⁽⁴¹⁾. Adicionalmente, tratamentos anticâncer baseados em quimioterapia e radioterapia são as causas iatrogênicas mais conhecidas para o estabelecimento e desenvolvimento deste distúrbio⁽⁴¹⁾.

A IOP trata-se de uma condição humana, que não é relatada em animais. No entanto, os animais domésticos e, especialmente os ruminantes, compartilham semelhanças importantes com a espécie humana no

tocante aos aspectos reprodutivos, tais como: duração do ciclo ovulatório (mulher: 24-30 dias, vaca: 17-24 dias, ovelha: 13-19 dias), número de ovulações por ciclo (mulher: 1, vaca: 1, ovelha: 1-2), duração da fase luteal (mulher: 14-16 dias, vaca: 15-18 dias, ovelha: 12-14 dias), diâmetro do folículo ovulatório (mulher: 18-20 mm, vaca: 15-20 mm) e duração da gestação [mulher: ~ 9 meses, vaca: ~ 9 meses⁽⁴²⁾]. Além disso, o sistema reprodutivo dos animais pode estar igualmente suscetível aos distúrbios que promovem direta ou indiretamente a disfunção reprodutiva. Dessa forma, devido às semelhanças que compartilham com a espécie humana em relação aos aspectos reprodutivos, alguns animais domésticos podem servir de modelos experimentais para os estudos da fertilidade e da toxicologia reprodutiva feminina^(2,42,43).

Relevância dos pigmentos bacterianos

Devido à cito/gonadotoxicidade dos quimioterápicos existentes, diversos estudos têm investigado o uso de novas terapias baseados na descoberta de substâncias para a prevenção, tratamento e controle do câncer. Esses estudos buscam substâncias que possuam um maior índice de seletividade para células cancerosas ou que sejam utilizados como adjuvantes aos quimioterápicos, atenuando os efeitos tóxicos e auxiliando a preservação de tecidos saudáveis^(15,44-46). Nesse sentido, as cepas bacterianas são capazes de produzir naturalmente uma infinidade de metabólitos. Dentre esses metabólitos, alguns são classificados como pigmentos, devido ao fato de apresentarem algum tipo de coloração no espectro visível de luz⁽⁴⁷⁾. Esses pigmentos geralmente apresentam uma gama de funções e propriedades que, de modo geral, atuam como fatores de virulência (determinando a patogenicidade de diferentes cepas bacterianas), conferindo resistência térmica e luminosa contra a radiação ultravioleta e promovendo o balanço redox [prevenindo contra o estresse oxidativo⁽⁴⁸⁾].

Os pigmentos bacterianos têm despertado o interesse da indústria em diversas frentes: no ramo alimentício, como corantes e aditivos antioxidantes naturais⁽⁴⁹⁾; na produção de novas gerações de antibióticos e antifúngicos, em decorrência da múltipla resistência de microrganismos às substâncias rotineiramente prescritas pela comunidade médica⁽⁵⁰⁾; na área cosmética, para a geração de novas formulações fotoprotetoras e antioxidantes⁽⁵¹⁾; na formulação de suplementos alimentares e na alimentação, aumentando a performance e o desenvolvimento animal⁽⁵²⁻⁵⁴⁾; e no tratamento do câncer, graças à sua eficácia contra diversas linhagens de células cancerosas em animais e humanos, sendo considerados potenciais quimioterápicos naturais. A figura 1 ilustra as principais e potenciais aplicações dos pigmentos de origem bacteriana.

O uso de pigmentos bacterianos na biotecnologia

e na farmacêutica é uma tendência mundial. Os pigmentos são compostos altamente bioativos e que exibem uma gama de propriedades de interesse social e econômico. Além disso, a produção e a obtenção de pigmentos bacterianos oferecem vários benefícios que justificam tal interesse, assim como a possibilidade de produção em larga escala, uma vez que a incubação de bactérias é relativamente simples e estimula o desenvolvimento de milhões e milhões de colônias⁽⁴⁹⁾. Adicionalmente, o domínio sobre a manipulação genética de microrganismos pode permitir seu contínuo aprimoramento, graças à transgenia e à edição genética. Neste sentido, quimioterápicos de origem vegetal, como os alcaloides vinca – vincristina e vimblastina – extraídos de *Catharanthus roseus*, e taxanos - paclitaxel - por exemplo, foram sintetizados *de novo* com sucesso por leveduras⁽⁵⁵⁾ e biossintetizados por uma variedade de bactérias⁽⁵⁶⁾, respectivamente. Ainda, graças a tecnologia de DNA recombinante, bactérias *Escherichia coli* não produtoras de violaceína modificadas com plasmídeos,

que expressavam operons sintéticos *vioABCDE* – envolvidos na síntese do pigmento – produziram com sucesso o referido pigmento, que possui vasto potencial farmacológico⁽⁵⁷⁾.

Ademais, a produção de pigmentos derivados de bactérias com potencial farmacológico diverso, entre eles, anticâncer, tem impacto positivo para o meio ambiente, visto que o cultivo bacteriano extingue a necessidade do plantio de extensas áreas de monoculturas tradicionalmente utilizadas para a obtenção dos quimioterápicos de origem vegetal⁽⁵⁵⁾. Reduzindo, por conseguinte, o uso de fertilizantes e pesticidas para o controle de pragas, que são conhecidos por afetar negativamente a saúde humana e a fertilidade feminina⁽⁵⁸⁾. Por esses motivos, a produção e o uso de pigmentos bacterianos representam uma janela para avanços promissores nas próximas décadas. A seguir serão abordados os principais pigmentos bacterianos com potencial anticâncer conhecidos atualmente.

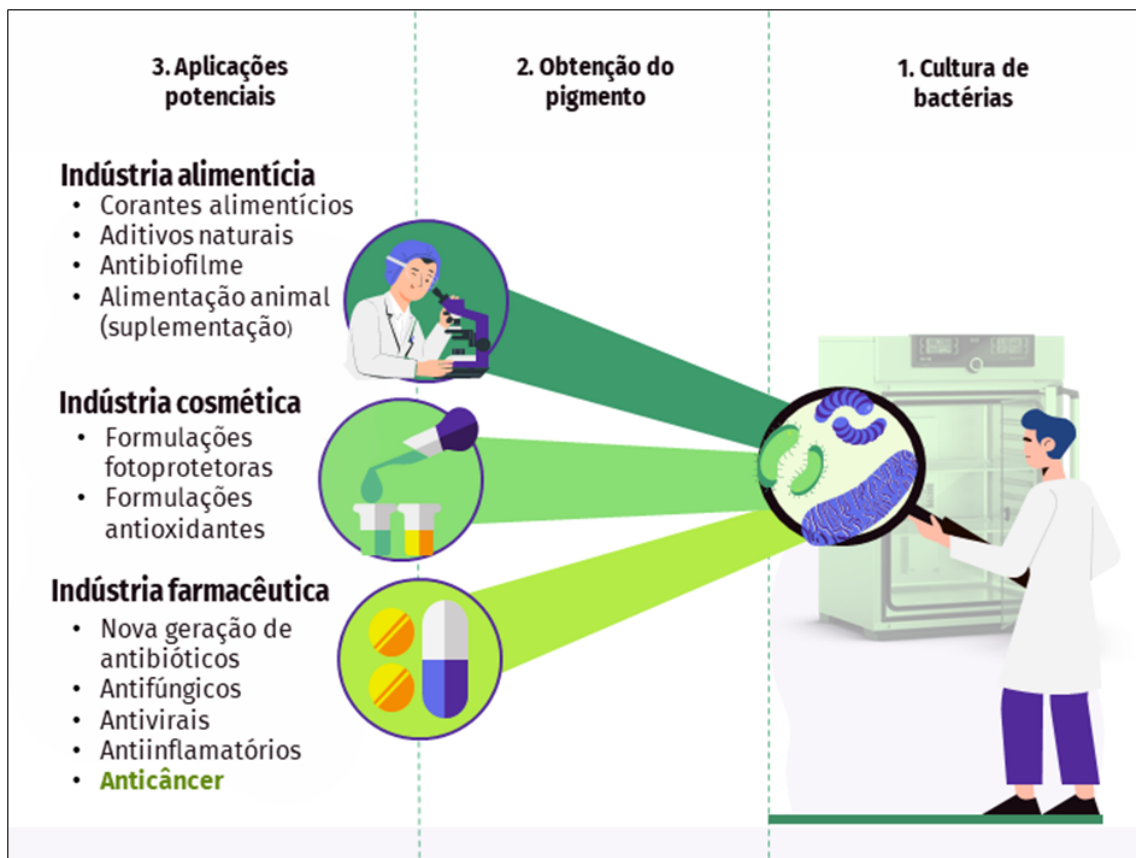


Figura 1. Aplicações potenciais para o uso comercial dos pigmentos bacterianos.

Carotenóides

Os carotenóides são uma grande variedade de biomoléculas naturais produzidas por plantas, algas, leveduras, fungos e bactérias. Eles possuem diversas colorações, variando desde vermelho, amarelo à laranja, e pertencem à subfamília isoprenóide⁽²¹⁾. Os carotenóides são classificados em dois grupos principais: os hidrocarbonetos puros, carotenos, por exemplo, α -caroteno, β -caroteno e licopeno e os derivados oxigenados, xantofilas, por exemplo, luteína, zeaxantina, astaxantina⁽⁵⁹⁾. Em bactérias, os carotenóides são metabólitos secundários que desempenham papéis fundamentais na adaptabilidade celular, protegendo-as da radiação ultravioleta e do dano oxidativo, assim como atuando nos mecanismos de manutenção da fluidez da membrana celular⁽⁶⁰⁾. Diversos gêneros de bactérias foram relatados como produtores de pigmentos carotenóides, tais como o astaxantina, β -caroteno, zeaxantina, cantaxantina e licopeno⁽²¹⁾.

Os carotenóides são amplamente conhecidos por sua capacidade antioxidante^(52,61,62) e por serem precursores naturais da vitamina A (retinol), uma vitamina lipossolúvel envolvida na divisão e diferenciação celular, no desenvolvimento ósseo e na função reprodutiva^(62,63). O efeito antioxidante dos carotenóides foi investigado em testes *in vivo* e *in vitro* envolvendo estruturas do sistema reprodutor feminino de diferentes espécies domésticas. Exemplificando, em um estudo *in vivo*, que avaliou o efeito da suplementação com β -caroteno na função ovariana, cabras suplementadas com 50 mg/dia de β -caroteno em associação à dieta durante 34 dias pré e 17 dias pós ovulação apresentaram aumento da atividade ovariana caracterizada pelo aumento do número total de folículos, da taxa de ovulação e do número total de corpos lúteos⁽⁵²⁾.

In vitro, a suplementação com licopeno no meio de cultivo de fragmentos ovarianos de galinhas idosas, reduziu o estresse oxidativo através da ativação de antioxidantes e da via Nrf / HO-1, aumentou a proliferação celular e reduziu as taxas de apoptose⁽⁷⁾. Durante a maturação *in vitro* (MIV) de complexos cumulus-oócitos (CCO) bovinos, a suplementação com licopeno, outro carotenoide, reduziu as taxas de apoptose e os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) oocitário, resultando em maiores taxas de clivagem, bem como aumento no número de células totais do trofotoderma e da massa celular interna de embriões produzidos após a fertilização *in vitro*⁽⁸⁾.

A suplementação de licopeno durante a MIV de CCO bovinos também impactou na produção de blastocistos com taxas significativamente maiores e uma razão de células apoptóticas menor em comparação

aos grupos de MIV tratados sem licopeno. Além disso, grupos tratados com licopeno apresentaram um total de 296 genes expressos diferencialmente, após análise transcriptômica, em que as vias associadas à função celular, metabolismo, reparo de DNA e anti- apoptose foram reguladas positivamente no grupo licopeno⁽⁹⁾.

Além do licopeno, a adição de carotenóides como β -caroteno e cantaxantina foi avaliada durante a MIV de oócitos murinos e porcinos, respectivamente. Durante a MIV de murinos, o β -caroteno bloqueou a inibição da maturação oocitária induzida pelo Rosup, um reagente que estimula a produção de EROS. Desta forma, β -caroteno melhorou a ativação partenogenética de oócitos de camundongos expostos a EROS, reduziu o nível de apoptose e restaurou a expressão de actina e a distribuição de grânulos corticais nos oócitos expostos a Rosup⁽⁶⁴⁾. A adição de cantaxantina, por sua vez, aumentou as taxas de clivagem e formação de blastocistos de oócitos porcinos ativados partenogeneticamente, aumentou os níveis de glutathione, um antioxidante hidrossolúvel reconhecido como o tiol não proteico mais importante nos sistemas vivos, e reduziu drasticamente os níveis de EROS⁽⁶⁵⁾.

Muito dos efeitos positivos alcançados pelo uso de carotenóides em meios de cultivo celular ou na alimentação animal, na forma de suplemento, se deve ao potencial antioxidante destes compostos. É sabido que o câncer, assim como os quimioterápicos e os poluentes ambientais, foram relatados por promoverem aumento significativo dos níveis de EROS, atuando como fatores pró-oxidantes para o restante do corpo, afetando a homeostase e propiciando danos. Neste sentido, compostos como os carotenóides auxiliam a promover o equilíbrio redox^(66,67).

Além de beneficiar os sistemas biológicos graças a seu potencial antioxidante, os carotenóides possuem atividade anticâncer direta. Em um estudo com modelo intraperitoneal, a metástase tumoral em murinos implantados com células de câncer de ovário foi atenuada pela administração oral de licopeno, que reduziu significativamente os níveis de fatores pró-tumorais, como o ki67⁽⁶⁸⁾. Em outro estudo, a administração oral de astaxantina promoveu a apoptose em câncer de cólon induzido por DMH em murino, modulando as expressões de fator nuclear- κ B (NF κ B), ciclooxigenase-2 (COX-2), metaloproteinase (MMP) 2 e 9, antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) e serina/treonina proteína quinase (ERK), fatores presentes na carcinogênese⁽⁶⁹⁾. *In vitro*, por sua vez, o licopeno induziu a apoptose de células de câncer de mama humano⁽⁷⁰⁾ e reduziu os níveis intracelular e mitocondrial de EROS, bem como induziu a apoptose de células de câncer pancreático (Panc-1) pela ativação de caspase e aumento de Bax⁽⁷¹⁾.

Melanina

Melanina é um termo geral para um grupo de pigmentos heterogêneos, geralmente insolúveis em água, ácido aquoso e solventes orgânicos comuns que geralmente aparecem na coloração preta ou marrom escura, podendo também produzir cores avermelhadas ou amareladas⁽⁴⁷⁾. Esses pigmentos são produzidos por organismos de todos os domínios de seres vivos, desde bactérias até mamíferos⁽⁷²⁾. A biossíntese de melanina em bactérias ocorre pela polimerização oxidativa de compostos fenólicos, predominantemente, por duas vias, 1,8-dihidroxi-naftaleno e 3,4-dihidroxifenilalanina, resultando em diferentes tipos de melanina: eumelanina, feomelanina, alomelanina, piomelanina e neuromelanina⁽⁷³⁾. As melaninas podem apresentar uma variedade de funções em bactérias ambientais e patogênicas, conferindo vantagens adaptativas e aumentando sua aptidão e sobrevivência em muitas condições de estresse⁽⁷³⁾. Dentre as variadas funções biológicas da melanina, destacam-se: a conferência de resistência ao estresse térmico ocasionado por radiação e ao estresse oxidativo ocasionado pelo desequilíbrio redox, e resistência a compostos tóxicos e metais pesados⁽⁴⁸⁾. Tais vantagens conferem a esta substância uma gama de aplicações em potencial, como composto natural antioxidante e anticâncer.

A melanina é um polímero com ação antioxidante pois interage prontamente com radicais livres e outras EROS, proporcionando a transferência simples de elétrons⁽⁴⁶⁾. Em um estudo *in vitro*, a melanina produzida por *Schizophyllum commune*, um fungo, demonstrou um efeito dose dependente sobre a inibição da proliferação de linhagens celulares de carcinoma de laringe epidermóide humano (HEP-2) e alta atividade na eliminação de radicais livres de 2, 2-difenil-1-picrilhidrazil em uma concentração de 50 µg/mL⁽⁴⁷⁾. Já em outro estudo, a melanina produzida por bactérias *Streptomyces glaucescen* demonstrou potente atividade citotóxica *in vitro* contra a proliferação e sobrevivência de linhagem celular de câncer de pele (HFB4), demonstrando uma taxa de mortalidade de 81,3% das células cancerosas, quando expostas à concentração de 100 µg/mL durante 24 horas. Além disso, se mostrou altamente segura ao apresentar baixa citotoxicidade em células normais (fibroblasto pulmonar humano e células amnióticas humanas) em comparação com quimioterápicos usuais, como o 5-fluorouracil⁽⁴⁶⁾. Além do efeito anticâncer, a melanina extraída de *S. glaucescen* exibiu um efeito antioxidante comparável ao do ácido ascórbico. Nesta mesma linha, recentemente, pesquisadores extraíram melanina produzida por *Bacillus licheniformis* e testaram seu efeito *in vitro* em diversas linhagens de células cancerosas. Eles observaram uma promissora atividade anticâncer do pigmento contra linhagem celular de

câncer de mama (MCF-7), linhagem celular de carcinoma hepatocelular humano (HepG2), e linhagem celular de carcinoma de cólon (HCT116). Adicionalmente, foi observada baixa citotoxicidade da melanina quando utilizada *in vitro* em baixas concentrações sobre células saudáveis como, por exemplo, em fibroblastos humanos [HFB4⁽⁷⁴⁾].

Violaceína

A violaceína é um pigmento bacteriano de cor violeta, sintetizado a partir do triptofano por uma via que envolve a ação sequencial de cinco enzimas diferentes (codificadas pelos genes *vio A, B, C, D e vio E*). Ela é produzida pelas espécies *Chromobacterium violaceum* e *Janthinobacterium lividum*⁽⁷⁵⁾, que são bactérias gram-negativas encontradas em ambientes terrestres e aquáticos, como às margens do Rio Negro, no Brasil⁽⁴⁴⁾. Estudos *in vitro* indicaram que a violaceína apresenta uma gama de efeitos terapêuticos, como: antibiótico⁽⁷⁶⁾, antiprotozoário⁽⁷⁵⁾ e antiviral⁽⁷⁷⁾. Além disso, o pigmento foi relatado como um indutor de apoptose em diversas linhagens de células cancerosas, indicando o seu uso como um potencial agente anticâncer. A citotoxicidade da violaceína para células do Tumor de Ascite de Ehrlich, por exemplo, é mediada por uma rápida (8-12 h) produção de EROS e uma diminuição nos níveis de glutatona intracelular, provavelmente devido ao estresse oxidativo⁽⁴⁴⁾. Já em linhagem celular de leucemia humana (HL-60) a citotoxicidade da violaceína demonstrou ser precedida por ativação de caspases, transcrição de genes alvo do fator nuclear kappa-B (NF-kappaB) e ativação da proteína quinase ativada por mitógeno [MAP⁽⁷⁸⁾]. Em linhagens de células de câncer de cólon humano (Caco-2), a violaceína medeia a produção de EROS, seguida pela ativação da caspase-3, liberação de citocromo C, e liberação de cálcio para o citosol, conduzindo a morte das células Caco-2 pela via de apoptose⁽⁷⁹⁾. Outro estudo constatou que o pigmento produzido pela espécie *Janthinobacterium lividum* foi capaz de inibir, *in vitro* e *in vivo*, o crescimento de linhagens celulares de carcinoma de cabeça e de pescoço. Nesse estudo, a violaceína inibiu o crescimento celular e induziu a autofagia e a apoptose, sendo constatado o seu efeito sobre a inibição de vias de proliferação celular (ERK1 e ERK2), bem como pelo aumento da razão Bax/Bcl-2 ligada à apoptose, à indução da degradação de p53, ao acúmulo de NF-kappaB e à produção de EROS⁽⁸⁰⁾. Em estudo realizado *in vivo* em camundongos BALB/c, a injeção intratumoral de 0,75 mg/kg de violaceína dissolvida em DMSO e diluída em PBS, assim como a injeção de 1 mg/kg durante 35 dias foram seguras e não alteraram os níveis hematimétricos dos animais⁽⁴⁴⁾.

Além de induzir a apoptose em células cancerosas, a violaceína promoveu alterações

morfológicas em linhagens de células de tumor cerebral (U87) causando, com isso, impacto em sua capacidade migratória, interferindo no processo metastático deste tipo de câncer⁽⁸¹⁾. Finalmente, um estudo *in vitro* constatou que a violaceína atua sinergicamente com o quimioterápico 5-fluorouracil, aumentando a citotoxicidade e a indução de apoptose, assim como interferindo a transdução de sinal mediada por Akt em linhagens celulares de câncer colorretal humano⁽⁴⁵⁾.

Prodigininas

Dentre a classe de pigmentos bacterianos descobertos e amplamente estudados ao longo dos anos, as prodigininas podem ser consideradas as mais notáveis, curiosas e importantes desta categoria. O nome “prodiginina”, associado a “prodígio, milagre”, tem origem de sua suposta ligação com relatos que remontam do ano 322 a.C, quando soldados da macedônia noticiaram o aparecimento de supostas gotas de sangue no interior dos pães usados para a alimentação, evento tido como profético pelos videntes do imperador Alexandre Magno. O conhecimento e estudo destes pigmentos procurou justificar eventos miraculosos ocorridos há mais de 700 anos, tal como o Milagre de Bolsena, origem da Festa de *Corpus Christi*, quando supostas gotas de sangue foram observadas na hóstia durante a celebração de uma missa presidida por um padre que lutava contra a falta de fé⁽⁸²⁾.

Além dos rumores envolvendo essa classe de pigmentos, que são formados por colônias de bactérias que se assemelham a gotículas de sangue, a classe das prodigininas compreende um grupo de pigmentos vermelhos, alcaloides, estruturalmente caracterizados como tripirróis heterocíclicos, ou seja, contém três anéis pirrólicos interligados [A, B e C⁽⁴⁹⁾]. Este grupo de pigmentos inclui a prodigiosina, a metacicloprodigiosina, a undecilprodigiosina, a nonilprodigiosina, a cicloprodigiosina, a ciclononilprodigiosina e a butilcicloheptilprodiginina^(83,84). Convenientemente, devido à similaridade das isoformas dessas substâncias, vem se tornando um consenso a utilização do termo “prodiginina”, para caracterizar a classe desses alcaloides, e “prodigiosina”, para se referir aos nomes particulares dos pigmentos vermelho ou magenta⁽⁸⁵⁾. As prodigininas são metabólitos secundários que foram extraídos e caracterizados pela primeira vez da bactéria gram-negativa *Serratia marcescens*⁽⁸⁴⁾. Além de *S. marcescens*, o pigmento também foi isolado de diversas espécies gram-positivas e gram-negativas^(83,86). Entre as espécies produtoras do pigmento, a *S. marcescens* se destaca por ser de fácil cultivo, proporcionando a produção em massa do referido bioativo⁽⁸⁷⁾.

As prodigiosinas apresentam coloração sensível ao pH, são fotossensíveis, insolúveis em água, moderadamente solúveis em álcool e éter e solúveis em

clorofórmio, metanol, acetonitrila e DMSO⁽⁸⁸⁻⁹⁰⁾. Embora o mecanismo pelo qual esses compostos agem seja complexo e, provavelmente multifatorial, uma ampla variedade de estudos demonstrou importantes propriedades associadas ao pigmento. As prodigiosinas exibiram variadas atividades, a saber: 1- antiviral, inibindo especificamente ao menos as vias de sinalização de NF-kappaB e Akt, que promove a morte celular acelerada em células infectadas com Herpes simplex vírus⁽⁹¹⁾; 2- atividade antimicrobiana, com atividade inibitória de 30% para *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*⁽⁹²⁾; 3- atividade anti-inflamatória, identificada como um potencial inibidor da proteína COX-2⁽⁹³⁾ e 4- atividade antioxidante, com potencial de eliminação de radicais DPPH de ~78 % e de radicais ABTS de ~71% na concentração de 500 µg/mL⁽⁸⁷⁾.

Além das propriedades citadas acima, a prodigiosina exibiu relevante e potente ação anticâncer contra várias linhagens de células cancerosas por meio de mecanismos distintos. Em linhagem celular de leucemia (K562), ela inibiu a proliferação, aumentou o índice de EROS, induziu apoptose, provavelmente pela indução do aumento de proteínas pró-apoptóticas, caspase-3-clivada, 8 e 9, e inibiu a autofagia. Identificou-se ainda que a cascata ERK ativada desempenha papel primário na apoptose induzida por prodigiosina em células K562⁽⁸⁹⁾. Já em linhagens celulares de câncer hematopoiético (células Jurkat-linfócitos T derivado de leucemia de linfócitos T, NOS-linhagem celular modelo derivada de mieloma murino, HL-60, células RAMOS- derivada de linfoma de Burkitt), a prodigiosina afetou as taxas de proliferação celular e apoptose, que foi caracterizada pela diminuição dose-dependente sobre o número de células viáveis, e aumento de células apoptóticas em todas as linhagens celulares de câncer estudadas⁽⁹⁴⁾.

Outra linhagem celular de câncer estudada foi de carcinoma pulmonar mucoepidermóide humano (NCHI-292), linhagem HEP-2, MCF-7 e HL-60, em que o pigmento isolado de *Serratia marcescens* produziu efeitos citotóxicos significativos em todas as linhagens celulares, com uma concentração inibitória (IC₅₀) de 3.6, 3.4, 5.1 e 1.7 µg/mL, respectivamente⁽⁹⁵⁾. Na linhagem celular de câncer cervical (HeLa), a prodigiosina inibiu a proliferação e induziu apoptose, graças a regulação positiva de Bax e caspase-3, com uma IC₅₀ de 2.1, 1.2 e 0.5 µg/mL após 24, 48 e 72 h de exposição⁽⁹⁶⁾. Adicionalmente, a associação de prodigiosina com diferentes substâncias também foi bem-sucedida, por exemplo, em associação com Zelavespib (PU-H71), um inibidor experimental de chaperona Hsp90, a prodigiosina isolada ou em combinação, regulou positivamente a expressão de Bax sem afetar a de Bcl-2. A combinação também aumentou

a expressão de caspase-3, 8 e 9, induzindo a apoptose e inibindo a adesão de linhagens celulares de adenocarcinoma mamário [MDA-MB-231⁽¹⁵⁾]. Efeitos semelhantes foram obtidos com a associação de prodigiosina e cisplatina, em que prodigiosina aumentou a sensibilidade de linhagens de carcinoma urotelial resistentes a cisplatina⁽⁹⁷⁾. Curiosamente, apesar de ser eficaz contra uma grande variedade de células cancerosas, a prodigiosina possui pouca, ou nenhuma citotoxicidade contra células normais^(15,19,94).

Piocianina

A piocianina é um metabólito secundário redox ativo e um importante fator de virulência de bactérias gram-negativas *Pseudomonas spp*⁽⁹⁸⁾. Trata-se de um pigmento azulado que compõe uma família de compostos tricíclicos, fenazinas, podendo existir na forma oxidada ou reduzida, sendo a última instável e altamente reativa com o oxigênio molecular⁽¹⁷⁾. Diferente de outros pigmentos com ação antioxidante, a piocianina parece induzir o estresse oxidativo em sistemas celulares e, por este motivo, pode induzir a citotoxicidade em células cancerosas por meio da geração de EROS e dano oxidativo celular progressivo⁽⁹⁹⁾.

Existe um consenso de que níveis balanceados de EROS estão envolvidos com os processos de formação, manutenção e progressão tumoral⁽¹⁰⁰⁾. O desbalanço de EROS, caracterizando um estresse oxidativo induzido pelos quimioterápicos está associado à depleção tumoral⁽⁶⁶⁾, pois o estresse oxidativo induz a peroxidação lipídica, gerando numerosos aldeídos eletrofilicos que podem atacar diversos alvos celulares⁽¹⁰¹⁾. Dessa forma, o aumento desbalanceado das EROS associado ao acúmulo de danos no DNA, senescência e morte celular induzida por agentes como a piocianina, pode ser uma estratégia para a depleção de tumores em crescimento⁽¹⁰²⁾. Por outro lado, o efeito pró ou antioxidante da piocianina pode estar mais relacionado a sua concentração e biodisponibilidade, visto que, em um estudo a atividade *in vitro* de eliminação de radicais livres da piocianina foi superior à do ácido ascórbico. Neste mesmo estudo, a substância isolada de *Pseudomonas aeruginosa*, não afetou significativamente a viabilidade de fibroblastos humanos, mesmo em altas concentrações (100 µg/mL) indicando, por exemplo, segurança de seu uso, inclusive para a fabricação de alimentos, já que possui atividade antibiofilme contra patógenos alimentares como *Salmonella enteritidis* e *Vibrio diabolicus*⁽¹⁰³⁾.

A baixa citotoxicidade da piocianina em células normais, associada à sua ação anticâncer, a coloca no *Hall* dos pigmentos bacterianos atuando como compostos naturais anticâncer. Os efeitos citotóxicos

dose-dependente *in vitro* da piocianina foram relatados pela primeira vez em células de hepatoma humano [HepG2⁽¹⁰⁴⁾] e contra a linhagem celular Panc-1⁽⁹⁹⁾. De modo semelhante a outros pigmentos bacterianos, a piocianina induz a apoptose celular, provavelmente devido ao aumento de EROS, danos ao DNA, ativação da caspase-3 e aceleração da senescência e apoptose^(104,105). Um breve resumo com os principais pigmentos abordados nesta revisão, incluindo a piocianina, o potencial farmacológico diverso, bem como o potencial anticâncer em linhagens distintas de células cancerosas é apresentado na tabela 2.

Perspectivas futuras e limitações

Esta revisão evidencia a relevância para o estudo e aplicações práticas do uso de pigmentos bacterianos. Os microrganismos, e mais especificamente as bactérias, são fontes infindáveis destes e de outros compostos bioativos pouco conhecidos e de vasto potencial farmacológico. Dessa forma, esses pigmentos podem colaborar para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas no tratamento do câncer, como alternativa ao uso de quimioterápicos altamente citotóxicos ou como adjuvantes aos quimioterápicos. Além disso, o domínio da manipulação de microrganismos associado aos avanços na engenharia genética, possibilitam avanços consideráveis na atualidade, bem como para as próximas décadas.

Assim, a identificação, o isolamento e o estudo destes e de outros pigmentos bacterianos e metabólitos bioativos constituem importantes alternativas para a geração de novas drogas anticâncer que apresentem menores efeitos colaterais, ou seja, maior seletividade contra células cancerosas e menor citotoxicidade para as células normais. Dentre os efeitos colaterais dos protocolos quimioterápicos utilizados atualmente para o tratamento do câncer podemos destacar os distúrbios reprodutivos, como a insuficiência ovariana prematura. No entanto, apesar dos avanços em estudos para o uso potencial de pigmentos bacterianos como drogas anticâncer, pouco se testou o efeito destes pigmentos sobre o aparelho reprodutor feminino, gônadas, gametas e embriões. Neste sentido, o uso de modelos animais para o estudo da toxicidade reprodutiva destas substâncias representa uma valiosa alternativa, visto que as biotecnologias disponíveis possibilitam a obtenção de grande parte do material biológico necessário, seguindo os princípios éticos de pesquisa. Com isso, estudos com cultivo *in vitro* de folículos ovarianos, maturação *in vitro* de gametas e produção *in vitro* de embriões podem ser usados como ferramentas para o estudo dos efeitos destes compostos sobre a reprodução em fêmeas.

Tabela 2. Potencial farmacológico diverso e potencial anticâncer das principais categorias de pigmentos bacterianos

Pigmentos	Bactérias produtoras	Potencial farmacológico	Potencial anticâncer		
			Linhagem celular / Tipo de tumor	Sistema experimental	Modelo animal (<i>in vivo</i>)
Carotenóides	<i>Flavobacterium spp.</i> , <i>Agrobacterium spp.</i> , <i>Micrococcus spp.</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Chromobacterium spp.</i> , <i>Rheinheimera spp.</i> e <i>Arthrobacter spp.</i> ⁽²¹⁾	Antioxidante ^(52,61,62) , anti-inflamatório ⁽⁶⁹⁾ , anticâncer ⁽⁶⁸⁻⁷¹⁾	Células OV-MZ-6 de câncer de ovário ⁽⁶⁸⁾ , células de câncer de mama MDA-MB-468 ⁽⁷⁰⁾ , células Panc-1 de câncer de pâncreas ⁽⁷¹⁾	<i>In vitro e in vivo</i>	Murino
Prodigininas	<i>Serratia marcescens</i> ⁽⁸⁴⁾ , <i>Hahella chejuensis</i> , <i>Pseudomonas magnesorubra</i> , <i>Vibrio spp.</i> , <i>Streptomyces spp.</i> , <i>Streptoverticillium rubrircetuli</i> , <i>Actinomadura madurae</i> , <i>Saccharopolyspora sp.</i> , <i>Actinomadura pelletieri</i> , <i>Alteromonas rubra</i> , <i>Pseudoalteromonas denitrificans</i> e <i>Hahella chejuensis</i> ^(83,86)	Antiviral ⁽⁹¹⁾ , antibacteriano, antifúngico ⁽⁹²⁾ , anti-inflamatório ⁽⁹³⁾ , antioxidante ⁽⁸⁷⁾ , anticâncer ^(15,89,94-96)	Células K562 de leucemia ⁽⁸⁹⁾ , células Jurkat, NOS, HL-60, RAMOS de câncer hematopoiético ⁽⁹⁴⁾ , células NCHI-292 de carcinoma pulmonar, Células HEP-2 de carcinoma de laringe, células MCF-7 de câncer de mama ⁽⁹⁵⁾ , células HeLa de câncer cervical ⁽⁹⁶⁾ , células MDA-MB-231 de adenocarcinoma mamário ⁽¹⁵⁾	<i>In vitro</i>	N/A
Piocianina	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^(98,103)	Antibacteriano ⁽¹⁰³⁾ , pró-oxidante ⁽¹⁷⁾ , antifúngico ⁽⁹⁸⁾ , anticâncer ^(99,104-105)	Células HepG2 de carcinoma hepatocelular ⁽¹⁰⁴⁾ , células Panc-1 de câncer de pâncreas ⁽⁹⁹⁾	<i>In vitro</i>	N/A
Melanina	<i>Streptomyces glaucescens</i> ⁽⁴⁶⁾ , <i>Bacillus licheniformis</i> ⁽⁷⁴⁾ , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ⁽⁴⁸⁾ , <i>Burkholderia xenovorans</i> , <i>Legionella pneumophila</i> ⁽⁷³⁾	Antioxidante ^(46,48) , anticâncer ^(46-47,74)	Células HEP-2 de carcinoma de laringe ⁽⁴⁷⁾ , células HFB4 de câncer de pele ⁽⁴⁶⁾ , célula MCF-7 de câncer de mama, Células HepG2 de carcinoma hepatocelular, células HCT116 de câncer de cólon ⁽⁷⁴⁾	<i>In vitro</i>	N/A
Violaceína	<i>Chromobacterium violaceum</i> ⁽⁷⁵⁾ , <i>Janthinobacterium lividum</i> ⁽⁸⁰⁾	Antibacteriano ⁽⁷⁶⁾ , antiviral ⁽⁷⁷⁾ , antiprotozoário ⁽⁷⁵⁾ , antioxidante ⁽⁴⁴⁾ , anticâncer ^(44-45, 78-81)	Células do tumor de Ehrlich ⁽⁴⁴⁾ , células HL-60 de leucemia ⁽⁷⁸⁾ , células Caco-2 de câncer de cólon ⁽⁷⁹⁾ , células CAL-27 de carcinoma da língua, células FaDu de carcinoma de faringe ⁽⁸⁰⁾ , células U87 de tumor cerebral ⁽⁸¹⁾ , células HCT116 de câncer de cólon ⁽⁴⁵⁾	<i>In vitro e in vivo</i>	Murino

N/A: não aplicável.

Conclusão

A prospecção para a produção em larga escala de compostos bioativos naturais extraídos de microrganismos, assim como os pigmentos bacterianos, constitui uma das grandes alternativas para a obtenção de substâncias com alto potencial de aplicação industrial e farmacêutica. Neste sentido, dado a escassez de estudos *in vitro* e *in vivo* avaliando os efeitos destas substâncias no aparelho reprodutor feminino, novas investigações a respeito do impacto destes promissores pigmentos sobre o desenvolvimento de folículos ovarianos, gametas e embriões, são de relevante importância.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Contribuições do autor

Conceituação: A. L. da C. Santos. **Curadoria de dados:** A. L. da C. Santos, A. C. A. Ferreira e J. R. de Figueiredo. **Análise formal:** A. L. da C. Santos, A. C. A. Ferreira e J. R. de Figueiredo. **Metodologia:** A. L. da C. Santos, A. C. A. Ferreira e J. R. de Figueiredo. **Supervisão:** J. R. de Figueiredo. **Writing-reviewing and editing:** A. L. da C. Santos e J. R. de Figueiredo.

Agradecimentos

Ao professor Jonatan M. Del S. Velarde, pela apreciação e revisão dos elementos textuais deste artigo, em sua versão em inglês.

Referências

1. Pope CN, Schlenk D, Baud FJ. History and basic concepts of toxicology. In: An Introduction to Interdisciplinary Toxicology.

Elsevier; 2020. p. 3–15. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813602-7.00001-6>

2. Zhang T, Yan D, Yang Y, Ma A, Li L, Wang Z, et al. The comparison of animal models for premature ovarian failure established by several different source of inducers. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016;81:223–32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.09.002>

3. Nieman CL, Kazer R, Brannigan RE, Zoloth LS, Chaselandsdale PL, Kinahan K, et al. Cancer survivors and infertility: A review of a new problem and novel answers. *J Support Oncol.* 2006;4(4):171–8. <https://www.researchgate.net/publication/7112088>

4. Familiari G, Caggiati A, Nottola SA, Ermini M, Benedetto MR Di, Motta PM. Infertility: Ultrastructure of human ovarian primordial follicles after combination chemotherapy for Hodgkin's disease. *Hum Reprod.* 1993;8(12):2080–7. doi: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a137985>

5. Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing K V., Thomas CF, Beecher CWW, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science.* 1997;275(5297):218–20. doi: <https://doi.org/10.1126/science.275.5297.218>

6. Mohanty NK, Saxena S, Singh UP, Goyal NK, Arora RP. Lycopene as a chemopreventive agent in the treatment of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Urol Oncol Semin Orig Investig.* 2005;23(6):383–5. doi: <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2005.05.012>

7. Liu X, Lin X, Zhang S, Guo C, Li J, Mi Y, et al. Lycopene ameliorates oxidative stress in the aging chicken ovary via activation of Nrf2/HO-1 pathway. *Aging.* 2018;10(8):2016–36. doi: <https://doi.org/10.18632/aging.101526>

8. Residiwati G, Azari-Dolatabad N, Tuska HSA, Sidi S, Van Damme P, Benedetti C, et al. Effect of lycopene supplementation to bovine oocytes exposed to heat shock during *in vitro* maturation. *Theriogenology.* 2021;173:48–55. doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.07.014>

9. Sidi S, Pascottini OB, Angel-Velez D, Azari-Dolatabad N, Pavani KC, Residiwati G, et al. Lycopene supplementation to serum-free maturation medium improves *in vitro* bovine embryo development and quality and modulates embryonic transcriptomic Profile. *Antioxidants.* 2022;344(11):3–18. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox11020344>

10. Hassanpour A, Yousefian S, Askaripour M, Shariffifar F, Ezzatabadipour M. Ovarian protection in cyclophosphamide-treated mice by fennel. *Toxicol Reports [Internet].* 2017;4:160–4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.03.002>

11. Moselhy SS, Al Mslmani MAB. Chemopreventive effect of lycopene alone or with melatonin against the genesis of oxidative stress and mammary tumors induced by 7,12 dimethyl (a)benzanthracene in sprague dawley female rats. *Mol Cell Biochem.* 2008;319(1–2):175–80. doi: <https://doi.org/10.1007/s11010-008-9890-6>

12. Palomino GJQ, Sá NAR, Guerreiro DD, Gomes FDR, Silva RF, Lopes EPF, et al. Induced-damages on preantral follicles by withanolide D, a potent chemotherapy candidate are not attenuated by melatonin. *Reprod Toxicol.* 2021;104:125–33. doi: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2021.07.005>

13. Fernandes SS, Coelho MS, Salas-Mellado M de las M. Bioactive compounds as ingredients of functional foods: polyphenols, carotenoids, peptides from animal and plant sources new [Internet]. *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications.* Elsevier Inc.; 2018. 129–142 p. Available from:

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00007-4>

14. Ran X, Zhang G, Li S, Wang J. Characterization and antitumor activity of camptothecin from endophytic fungus *Fusarium solani* isolated from *Camptotheca acuminata*. *Afr Health Sci.* 2017;17(2):566–74. doi: <https://doi.org/10.4314/ahs.v17i2.34>

15. Anwar MM, Shalaby M, Embaby AM, Saeed H, Agwa MM, Hussein A. Prodigiosin/PU-H71 as a novel potential combined therapy for triple negative breast cancer (TNBC): preclinical insights. *Sci Rep [Internet].* 2020;10(1):1–15. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71157-w>

16. Kerr JR, Taylor GW, Rutman A, Høiby N, Cole PJ, Wilson R. *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin and 1-hydroxyphenazine inhibit fungal growth. *J Clin Pathol.* 1999;52(5):385–7. doi: <https://doi.org/10.1136/jcp.52.5.385>

17. Marrez DA, Mohamad HS. Biological activity and applications of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Open Access J Biomed Sci.* 2020;1(4):140–4. doi: <https://doi.org/10.38125/OAJBS.000133>

18. Borić M, Danevčić T, Stopar D. Prodigiosin from *Vibrio sp.* DSM 14379; A New UV-Protective Pigment. *Microb Ecol.* 2011;62(3):528–36. doi: <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9857-0>

19. Guryanov I, Naumenko E, Akhatova F, Lazzara G, Cavallaro G, Nigamatzyanova L, et al. Selective cytotoxic activity of prodigiosin@halloysite nanoformulation. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:1–13. doi: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00424>

20. Reis-Mansur MCPP, Cardoso-Rurr JS, Silva JVMA, Souza GR, Cardoso VS, Mansoldo FRP, et al. Carotenoids from UV-resistant Antarctic *Microbacterium sp.* LEMMJ01. *Sci Rep.* 2019;9(9554):1–14. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45840-6>

21. Ram S, Mitra M, Shah F, Tirkey SR, Mishra S. Bacteria as an alternate biofactory for carotenoid production: A review of its applications, opportunities and challenges. *J Funct Foods [Internet].* 2020;67:103867. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103867>

22. Malhotra V, Perry MC. Classical chemotherapy: mechanisms, toxicities and the therapeutic window. *Cancer Biol Ther.* 2003;2(4):1–4. <https://doi.org/10.4161/cbt.199>

23. Desai A, Qazi G, Ganju R, El-Tamer M, Singh J, Saxena A, et al. Medicinal plants and cancer chemoprevention. *Curr Drug Metab.* 2008;9(7):581–91. doi: <https://doi.org/10.2174/138920008785821657>

24. Alizadeh D, Trad M, Hanke NT, Larmonier CB, Janikashvili N, Bonnotte B, et al. Doxorubicin eliminates myeloid-derived suppressor cells and enhances the efficacy of adoptive T-cell transfer in breast cancer. *Cancer Res.* 2014;74(1):104–18. doi: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-1545>

25. Borenfreund E, Babich H, Martin-alguacil A. Rapid chemosensitivity assay with human normal and tumor cells *in vitro*. *Vitr Cell Dev Biol.* 1990;26(11):1030–4. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02624436>

26. Zhao R, Liu X, Yang X, Jin B, Shao C, Kang W, et al. Nanomaterial-based organelles protect normal cells against chemotherapy-induced cytotoxicity. *Adv Mater.* 2018;30(27):1–8. doi: <https://doi.org/10.1002/adma.201801304>

27. Titus S, Szymanska KJ, Musul B, Turan V, Taylan E, Garcia-Milian R, et al. Individual-oocyte transcriptomic analysis shows that genotoxic chemotherapy depletes human primordial follicle reserve *in vivo* by triggering proapoptotic pathways without growth activation. *Sci Rep.* 2021;11(407):1–10. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00007-4>

doi.org/10.1038/s41598-020-79643-x

28. Bellusci G, Mattiello L, Iannizzotto V, Ciccone S, Maiani E, Villani V, et al. Kinase-independent inhibition of cyclophosphamide-induced pathways protects the ovarian reserve and prolongs fertility. *Cell Death Dis.* 2019;10(10):1–14. doi: <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1961-y>
29. Tanaka T, Utsunomiya T, Utsunomiya H, Umesaki N. Irinotecan HCl, an anticancer topoisomerase I inhibitor, frequently induces ovarian failure in premenopausal and perimenopausal women. *Oncol Rep.* 2008;19:1123–33. doi: <https://doi.org/10.3892/or.19.5.1123>
30. Tarumi W, Suzuki N, Takahashi N, Kobayashi Y, Kiguchi K, Sato K, et al. Ovarian toxicity of paclitaxel and effect on fertility in the rat. *J Obstet Gynaecol Res.* 2009;35(3):414–20. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2009.01023.x>
31. Stefansdottir A, Johnston ZC, Powles-Glover N, Anderson RA, Adams IR, Spears N. Etoposide damages female germ cells in the developing ovary. *BMC Cancer.* 2016;16(482):1–14. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2505-9>
32. Chu CS, Rubin SC. Basic Principles of chemotherapy. In: *Clinical Gynecologic Oncology.* Elsevier Inc.; 2018. p. 449–469.e2.
33. Kim S, Lee S, Park HT, Song JY, Kim T. Genomic consideration in chemotherapy-induced ovarian damage and fertility preservation. *Genes.* 2021;12(10):1525. doi: <https://doi.org/10.3390/genes12101525>
34. Kalich-Philosoph L, Roness H, Carmely A, Fishel-Bartal M, Ligumsky H, Paglin S, et al. Cyclophosphamide triggers follicle activation and "burnout"; AS101 prevents follicle loss and preserves fertility. *Sci Transl Med.* 2013;5(185):1–9. doi: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005402>
35. Yang M, Cushman RA, Fortune JE. Anti-Mullerian hormone inhibits activation and growth of bovine ovarian follicles *in vitro* and is localized to growing follicles. *Mol Hum Reprod.* 2017;23(5):282–91. doi: <https://doi.org/10.1093/molehr/gax010>
36. Sonigo C, Beau I, Binart N, Grynberg M. The impact of chemotherapy on the ovaries: Molecular aspects and the prevention of ovarian damage. *Int J Mol Sci.* 2019;20(21):5342. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20215342>
37. Bar-Joseph H, Ben-Aharon I, Tzabari M, Tsarfaty G, Stemmer SM, Shalgi R. *In vivo* bioimaging as a novel strategy to detect Doxorubicin-Induced damage to gonadal blood vessels. *PLoS One.* 2011;6(9):1–8. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023492>
38. Meiorow D, Dor J, Kaufman B, Shrim A, Rabinovici J, Schiff E, et al. Cortical fibrosis and blood-vessels damage in human ovaries exposed to chemotherapy. Potential mechanisms of ovarian injury. *Hum Reprod.* 2007;22(6):1626–33. doi: <https://doi.org/10.1093/humrep/dem027>
39. Goswami D, Conway GS. Premature ovarian failure. *Human Reproduction Update.* 2005;11(4):391–410. doi: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmi012>
40. Ghahremani-Nasab M, Ghanbari E, Jahanbani Y, Mehdizadeh A, Yousefi M. Premature ovarian failure and tissue engineering. *J Cell Physiol.* 2020;235(5):4217–26. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.29376>
41. Ebrahimi M, Asbagh FA. Pathogenesis and causes of premature ovarian failure: An update. *Int J Fertil Steril.* 2011;5(2):54–65.
42. Abedal-Majed MA, Cupp AS. Livestock animals to study infertility in women. *Anim Front.* 2019;9(3):28–33. doi: <https://doi.org/10.1093/af/vfz017>
43. Bandyopadhyay S, Chakrabarti J, Banerjee S, Pal AK, Goswami SK, Chakravarty BN, et al. Galactose toxicity in the rat as a model for premature ovarian failure: An experimental approach readdressed. *Hum Reprod.* 2003;18(10):2031–8. doi: <https://doi.org/10.1093/humrep/deg414>
44. Bromberg N, Dreyfuss JL, Regatieri C V., Palladino M V., Durán N, Nader HB, et al. Growth inhibition and pro-apoptotic activity of violacein in Ehrlich ascites tumor. *Chem Biol Interact.* 2010;186(1):43–52. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.04.016>
45. Kodach LL, Bos CL, Durán N, Peppelenbosch MP, Ferreira C V., Hardwick JCH. Violacein synergistically increases 5-fluorouracil cytotoxicity, induces apoptosis and inhibits Akt-mediated signal transduction in human colorectal cancer cells. *Carcinogenesis.* 2006;27(3):508–16. doi: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgi307>
46. El-Naggar N, El-Ewasy SM. Bioproduction, characterization, anticancer and antioxidant activities of extracellular melanin pigment produced by newly isolated microbial cell factories *Streptomyces glaucescens* NEAE-H. *Sci Rep.* 2017;7:1–19. doi: <https://doi.org/10.1038/srep42129>
47. Arun G, Eyini M, Gunasekaran P. Characterization and biological activities of extracellular melanin produced by *Schizophyllum commune* (Fries). *Indian J Exp Biol.* 2015;53(6):380–7.
48. Pavan ME, López NI, Pettinari MJ. Melanin biosynthesis in bacteria, regulation and production perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020;104(4):1357–70. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10245-y>
49. Darshan N, Manonmani HK. Prodigiosin and its potential applications. *J Food Sci Technol.* 2015;52(9):5393–407. doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1740-4>
50. Azman AS, Mawang CI, Abubakar S. Bacterial pigments: The bioactivities and as an alternative for therapeutic applications. *Nat Prod Commun.* 2018;13(12):1747–54. doi: <https://doi.org/10.1177/1934578X1801301240>
51. Suryawanshi RK, Patil CD, Borase HP, Narkhede CP, Stevenson A, Hallsworth JE, et al. Towards an understanding of bacterial metabolites prodigiosin and violacein and their potential for use in commercial sunscreens. *Int J Cosmet Sci.* 2015;37(1):98–107. doi: <https://doi.org/10.1111/ics.12175>
52. Meza-Herrera CA, Vargas-Beltran F, Tena-Sempere M, González-Bulnes A, Macías-Cruz U, Veliz-Deras FG. Short-term betacarotene supplementation positively affects ovarian activity and serum insulin concentrations in a goat model. *J Endocrinol Invest.* 2013;36(3):185–9. doi: <https://doi.org/10.3275/8410>
53. Meza-Herrera CA, Reyes-Avila JM, Tena-Sempere M, Veliz-Deras FG, Macías-Cruz U, Rodríguez-Martínez R, et al. Long-term betacarotene supplementation positively affects serum triiodothyronine concentrations around puberty onset in female goats. *Small Rumin Res [Internet].* 2014;116(2):176–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.10.017>
54. Venil CK, Dufossé L, Renuka Devi P. Bacterial Pigments: Sustainable Compounds With Market Potential for Pharma and Food Industry. *Front Sustain Food Syst.* 2020;4:1–17. doi: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00100>
55. Courdavault V, O'Connor SE, Oudin A, Besseau S, Papon N. Towards the Microbial Production of Plant-Derived Anticancer Drugs. *Trends in Cancer [Internet].* 2020;6(6):444–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2020.02.004>
56. Flores-Bustamante ZR, Rivera-Ordúña FN, Martínez-Cárdenas A, Flores-Costera LB. Microbial paclitaxel: Advances

- and perspectives. *J Antiot.* 2010;63(8):460-7. doi: <https://doi.org/10.1038/ja.2010.83>
57. Bilsland E, Tavella TA, Krogh R, Stokes JE, Roberts A, Ajioka J, et al. Antiplasmodial and trypanocidal activity of violacein and deoxyviolacein produced from synthetic operons. *BMC Biotechnol.* 2018;18(1):1-8. doi: <https://doi.org/10.1186/s12896-018-0428-z>
58. Aloo BN, Makumba BA, Mbega ER. The potential of *Bacilli rhizobacteria* for sustainable crop production and environmental sustainability. *Microbiol Res* [Internet]. 2019;219:1-33. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.011>
59. Aryee AN, Agyei D, Akanbi TO. Recovery and utilization of seaweed pigments in food processing. *Curr Opin Food Sci* [Internet]. 2018;19:113-9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.03.013>
60. Vila E, Hornero-Méndez D, Azziz G, Lareo C. Carotenoids from heterotrophic bacteria isolated from Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. *Biotechnol Reports.* 2018;20:1-7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bre.2019.e00306>
61. Hix LM, Lockwood SF, Bertram JS. Bioactive carotenoids: Potent antioxidants and regulators of gene expression. *Redox Rep.* 2004;9(4):181-91. doi: <https://doi.org/10.1179/135100004225005967>
62. Grune T, Lietz G, Palou A, Ross AC, Stahl W, Tang G, et al. B-Carotene is an important vitamin source for humans. *J Nutr.* 2010;140:2268-85. doi: <https://doi.org/10.3945/jn.109.119024>
63. Lopez-Flores NM, Meza-Herrera CA, Perez-Marin C, Blache D, Arellano-Rodríguez G, Zuñiga-García S, et al. Precision betacarotene supplementation enhanced ovarian function and the LH release pattern in yearling crossbred anestrus goats. *Animals.* 2020;10(4):1-10. doi: <https://doi.org/10.3390/ani10040659>
64. Yu S, Zhao Y, Feng Y, Zhang H, Li L, Shen W, et al. B-Carotene improves oocyte development and maturation under oxidative stress *in vitro*. *Vitr Cell Dev Biol - Anim.* 2019;55(7):548-58. doi: <https://doi.org/10.1007/s11626-019-00373-0>
65. Taweechaipaisankul A, Jin JX, Lee S, Kim GA, Lee BC. The effects of canthaxanthin on porcine oocyte maturation and embryo development *in vitro* after parthenogenetic activation and somatic cell nuclear transfer. *Reprod Domest Anim.* 2016;51:870-6. doi: <https://doi.org/10.1111/rda.12748>
66. Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res.* 2010;44(5):479-96. doi: <https://doi.org/10.3109/10715761003667554>
67. Al-Gubory KH. Environmental pollutants and lifestyle factors induce oxidative stress and poor prenatal development. *Reproductive BioMedicine Online.* 2014;(29):17-31. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.03.002>
68. Holzapfel NP, Shokoohmand A, Wagner F, Landgraf M, Champ S, Holzapfel BM, et al. Lycopene reduces ovarian tumor growth and intraperitoneal metastatic load. *Am J Cancer Res.* 2017;7(6):1322-36.
69. Nagendraprabhu P, Sudhandiran G. Astaxanthin inhibits tumor invasion by decreasing extracellular matrix production and induces apoptosis in experimental rat colon carcinogenesis by modulating the expressions of ERK-2, NFκB and COX-2. *Invest New Drugs.* 2011;29(2):207-24. doi: <https://doi.org/10.1007/s10637-009-9342-5>
70. Takeshima M, Ono M, Higuchi T, Chen C, Hara T, Nakano S. Anti-proliferative and apoptosis-inducing activity of lycopene against three subtypes of human breast cancer cell lines. *Cancer Sci.* 2014;105(3):252-7. doi: <https://doi.org/10.1111/cas.12349>
71. Jeong Y, Lim JW, Kim H. Lycopene inhibits reactive oxygen species-mediated nf-kb signaling and induces apoptosis in pancreatic cancer cells. *Nutrients.* 2019;11(4):1-17. doi: <https://doi.org/doi:10.3390/nu11040762>
72. Tran-Ly AN, Reyes C, Schwarze FW, Ribera J. Microbial production of melanin and its various applications. *World J Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2020;36(11):1-9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02941-z>
73. Singh S, Nimse SB, Mathew DE, Dhimmara A, Sahasrabudhe H, Gajjar A, et al. Microbial melanin: Recent advances in biosynthesis, extraction, characterization, and applications. *Biotechnol Adv* [Internet]. 2021;53(5):107773. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107773>
74. Gamal Shalaby AS, Ragab TIM, Helal MMI, Esawy MA. Optimization of *Bacillus licheniformis* MAL tyrosinase: *in vitro* anticancer activity for brown and black eumelanin. *Heliyon* [Internet]. 2019;5(5):e01657. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01657>
75. Matz C., Deines P, Boenigk J, Arndt H, Eberl L, Kjelleberg S, Ju"rgens. Impact of violacein-producing bacteria on survival and feeding of bacterivorous nanoflagellates. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70(3): 1593-9. doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1593-1599.2004>
76. Dodou HV., de Moraes Batista AH, Sales GWP, de Medeiros SC, Rodrigues ML, Nogueira PCN, et al. Violacein antimicrobial activity on *Staphylococcus epidermidis* and synergistic effect on commercially available antibiotics. *J Appl Microbiol.* 2017;123(4):853-60. doi: <https://doi.org/10.1111/jam.13547>
77. Andrighetti-Fröhner CR, Antonio R V, Creczynski-Pasa TB, Barardi CRM, Simões CMO. Cytotoxicity and potential antiviral evaluation of violacein produced by *Chromobacterium violaceum*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003;98(6):843-8. doi: <https://doi.org/10.1590/s0074-02762003000600023>
78. Ferreira CV, Bos CL, Versteeg HH, Justo GZ, Durán N, Peppelenbosch MP. Molecular mechanism of violacein-mediated human leukemia cell death. *Blood.* 2004;104(5):1459-64. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2004-02-0594>
79. Carvalho DD, Costa FTM, Duran N, Haun M. Cytotoxic activity of violacein in human colon cancer cells. *Toxicol Vitr.* 2006;20(8):1514-21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2006.06.007>
80. Masuelli L, Pantanella F, La Regina G, Benvenuto M, Fantini M, Mattered R, et al. Violacein, an indole-derived purple-colored natural pigment produced by *Janthinobacterium lividum*, inhibits the growth of head and neck carcinoma cell lines both *in vitro* and *in vivo*. *Tumor Biol.* 2016;37(3):3705-17. doi: <https://doi.org/10.1007/s13277-015-4207-3>
81. Mehta T, Verduyck K, Johnson T, Ejiofor AO, Myles E, Quick QA. Violacein induces p44/42 mitogen-activated protein kinase-mediated solid tumor cell death and inhibits tumor cell migration. *Mol Med Rep.* 2015;12(1):1443-8. doi: <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3525>
82. Fürstner A. Chemistry and biology of roseophenol and the prodigiosin alkaloids: A survey of the last 2500 years. *Angew Chem Int Ed.* 2003;42(31):3582-603. doi: <https://doi.org/10.1002/anie.200300582>
83. Elahian F, Moghimi B, Dinmohammadi F, Ghamghami M, Hamidi M, Mirzaei SA. The anticancer agent prodigiosin is not a multidrug resistance protein substrate. *DNA Cell Biol.* 2013;32(3):90-7. doi: <https://doi.org/10.1089/dna.2012.1902>

84. Liu Y, Zhou H, Ma X, Lin C, Lu L, Liu D, et al. Prodigiosin inhibits proliferation, migration, and invasion of nasopharyngeal cancer cells. *Cell Physiol Biochem*. 2018;48(4):1556–62. doi: <https://doi.org/10.1159/00049227>
85. Silva A, Guimarães L, Ferreira E, Torres M, Silva A., Branco P, et al. Bioprospecting anticancer compounds from the marine-derived Actinobacteria *Actinomadura sp.* collected at the Saint Peter and Saint Paul Archipelago (Brazil). *J Braz Chem Soc*. 2017;28(3):465–74. doi: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20160297>
86. Gulani C, Bhattacharya S, Das A. Assessment of process parameters influencing the enhanced production of prodigiosin from *Serratia marcescens* and evaluation of its antimicrobial, antioxidant and dyeing potentials. *Malays J Microbiol*. 2012;8(2):116–22. doi: <https://doi.org/10.21161/mjm.03612>
87. Sudhakar C, Shobana C, Selvankumar T, Selvam K. Prodigiosin production from *Serratia marcescens* strain CSK and their antioxidant, antibacterial, cytotoxic effect and in silico study of caspase-3 apoptotic protein. *Biotechnol Appl Biochem*. 2021;1–14. doi: <https://doi.org/10.1002/bab.2261>
88. Wang F, Luo H, Song G, Liu C, Wang J, Xu J, et al. Prodigiosin found in *Serratia marcescens* y2 initiates phototoxicity in the cytomembrane. *Electron J Biotechnol*. 2013;16(4):1–9. doi: <https://doi.org/10.2225/vol16-issue4-fulltext-7>
89. Ji S, Sun R, Xu K, Man Z, Ji J, Pu Y, et al. Prodigiosin induces apoptosis and inhibits autophagy via the extracellular signal-regulated kinase pathway in K562 cells. *Toxicol Vitro* [Internet]. 2019;60(11):107–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.05.003>
90. Zhao Y, Cheng Q, Shen Z, Fan B, Xu Y, Cao Y, et al. Structure of prodigiosin from *Serratia marcescens* njzt-1 and its cytotoxicity on tsc2-null cells. *Food Sci Technol*. 2021;41:189–96. doi: <https://doi.org/10.1590/fst.35719>
91. Suryawanshi RK, Koujah L, Patil CD, Ames JM, Agelidis A, Yadavalli T, et al. Bacterial pigment prodigiosin demonstrates a unique antiherpesvirus activity that is mediated through inhibition of pro-survival signal transducers. *J Virol*. 2020;94(13):1–30. doi: <https://doi.org/10.1128/JVI.00251-20>
92. Suryawanshi RK, Patil CD, Koli SH, Hallsworth JE, Patil S V. Antimicrobial activity of prodigiosin is attributable to plasma-membrane damage. *Nat Prod Res* [Internet]. 2017;31(5):572–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2016.1195380>
93. Krishna PS, Vani K, Prasad MR, Samatha B, Hima Bindu NSVSL, Singara Charya MA, et al. In-silico molecular docking analysis of prodigiosin and cycloprodigiosin as COX-2 inhibitors. *Springerplus*. 2013;2(1):1–6. <http://www.springerplus.com/content/2/1/172>
94. Montaner B, Navarro S, Piqué M, Vilaseca M, Martinell M, Giralt E, et al. Prodigiosin from the supernatant of *Serratia marcescens* induces apoptosis in haematopoietic cancer cell lines. *Br J Pharmacol*. 2000;131(3):585–93. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703614>
95. Lapenda JCL, Alves VP, Adam ML, Rodrigues MD, Nascimento SC. Cytotoxic effect of prodigiosin, natural red pigment, isolated from *Serratia marcescens* UFPEDA 398. *Indian J Microbiol* [Internet]. 2020;60(2):182–95. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12088-020-00859-6>
96. Lin P Bin, Shen J, Ou PY, Liu LY, Chen ZY, Chu FJ, et al. Prodigiosin isolated from *Serratia marcescens* in the *Periplaneta americana* gut and its apoptosis-inducing activity in HeLa cells. *Oncol Rep*. 2019;41(6):3377–85. doi: <https://doi.org/10.3892/or.2019.7089>
97. Berning L, Schlütermann D, Friedrich A, Berleth N, Sun Y, Wu W, et al. Prodigiosin sensitizes sensitive and resistant urothelial carcinoma cells to cisplatin treatment. *Molecules*. 2021;26(5):1–17. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26051294>
98. Ashour EA, Farsi RM, Alaidaroos BA, Abdel-Moneim AME, El-Saadony MT, Osman AO, et al. Impacts of dietary supplementation of pyocyanin powder on growth performance, carcass traits, blood chemistry, meat quality and gut microbial activity of broilers. *Ital J Anim Sci* [Internet]. 2021;20(1):1357–72. Available from: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1924087>
99. Moayedi A, Nowroozi J, Akhavan Sepahy A. Cytotoxic effect of pyocyanin on human pancreatic cancer cell line (Panc-1). *Iran J Basic Med Sci*. 2018;21(8):794–9. doi: <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2018.27865.6799>
100. Kumari S, Badana AK, Murali Mohan G, Shailender G, Malla RR. Reactive oxygen species: A key constituent in cancer survival. biomarker insights. 2018;13:1-9. doi: <https://doi.org/10.1177/1177271918755391>
101. Conklin KA. Chemotherapy-associated oxidative stress: Impact on chemotherapeutic effectiveness. *Integr Cancer Ther*. 2004;3(4):294–300. doi: <https://doi.org/10.1177/1534735404270335>
102. Colavitti R, Finkel T. Reactive oxygen species as mediators of cellular senescence. *IUBMB Life*. 2005;57:277–81. doi: <https://doi.org/10.1080/15216540500091890>
103. Laxmi M, Bhat SG. Characterization of pyocyanin with radical scavenging and antibiofilm properties isolated from *Pseudomonas aeruginosa* strain BTRY1. *3 Biotech*. 2016;6(1):1–5. doi: <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0350-1>
104. Zhao J, Wu Y, Alfred AT, Wei P, Yang S. Anticancer effects of pyocyanin on HepG2 human hepatoma cells. *Lett Appl Microbiol*. 2014;58:541–8. doi: <https://doi.org/10.1111/lam.12224>
105. Muller M. Premature cellular senescence induced by pyocyanin, a redox-active *Pseudomonas aeruginosa* toxin. *Free Radic Biol Med*. 2006;41(11):1670–7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.09.004>