

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
FACFAN/UFMS

RAÍSSA CABRAL FERREIRA

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO FUNGO ENDOFÍTICO *Penicillium*
cataractarum 5IP2F4 NA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS**

CAMPO GRANDE - MS

2025

RAÍSSA CABRAL FERREIRA

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO FUNGO ENDOFÍTICO *Penicillium*
cataractarum 5IP2F4 NA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia Bacharelado da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (FACFAN/UFMS), como requisito parcial para aprovação no curso.

Orientadora: Denise Brentan da Silva.

CAMPO GRANDE - MS

2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus e à minha família, esta que me apoiou durante todo meu progresso na graduação e me deu suporte para finalizar essa jornada. Agradeço, também, a todos meus amigos, professores da graduação e meus colegas do Laboratório de Produtos Naturais e Espectrometria de Massas (LaPNEM) que me inspiraram e ajudaram neste trabalho, em especial a minha orientadora Denise Brentan da Silva, que me orientou com diligência em ambas pesquisas de iniciação científica e deste trabalho de conclusão de curso. Também à mestra Luana Bonifácio Sanches, que me acompanhou durante minha iniciação científica no LaPNEM, e à mestra Mariana Calarge Nocetti que me incentivou a concluir este trabalho. Por fim, um agradecimento à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul que possibilitou meu desenvolvimento acadêmico, e aos órgãos de fomento que apoiam as pesquisas científicas e projetos acadêmicos, o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (Fundect).

RESUMO

Fungos endofíticos são microrganismos simbióticos que habitam tecidos vegetais sem causar danos. Eles produzem metabólitos secundários para defesa e adaptação, sendo uma fonte importante de produtos naturais com potencial biotecnológico para o desenvolvimento de novos fármacos. Atualmente, a busca por novos medicamentos antibacterianos é crucial devido ao aumento da resistência bacteriana aos antibióticos existentes. Nesse contexto, estudos preliminares realizados no LaPNEM identificaram uma cepa promissora, o *Penicillium cataractarum* 5IP2F4, que demonstrou potencial de atuação frente à bactéria *Staphylococcus aureus*. À vista disso, o presente trabalho teve como objetivo o cultivo endófito *P. cataractarum* 5IP2F4, previamente isolado da *Bromelia balansae* coletada no Pantanal, utilizando a estratégia *One Strain Many Compounds* (OSMAC) e a anotação dos compostos presentes nos extratos. Realizou-se a caracterização química dos extratos brutos obtidos dos sobrenadantes (EBsob) e das biomassas miceliais (EBmic) do cultivo líquido nos meios: caldo batata-dextrose (CBD), CBDc comercial, extrato de levedura-peptona-dextrose (LPD) e *Sabouraud* (SAB), em busca de novas moléculas, cujos perfis químicos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos e espectrômetro de massas. Foram anotados dos extratos compostos como as cumarinas tetrahidroxi-metil-dihidroisocumarina e trihidroxi-metil-dihidroisocumarina, as quais foram produzidas em maior quantidade nos meios de batata, bem como o ciclopeptídeo desferricroma, produzido pelos micélios nos 4 meios, além de ácido cítrico, tirosina e adenosina. O meio LPD apresentou os maiores rendimentos de extratos e biomassa, evidenciando condições nutricionais mais favoráveis ao crescimento, enquanto a produção de metabólitos foi mais estimulada nos meios de batata, mesmo com uma composição mais simples. Os cromatogramas obtidos dos extratos revelaram diferentes picos entre os meios, além disso, foi possível observar uma maior produção de compostos pelo fungo nos EBsob em relação aos EBmic. Com estes resultados, a pesquisa permitiu, também, ampliar o conhecimento sobre a espécie, pois não há dados suficientes sobre o *P. cataractarum*, bem como sobre a composição química da comunidade de endófitos do Pantanal sul-mato-grossense, podendo ressaltar a importância da conservação do bioma.

Palavras-chave: produtos naturais, fungos, endófitos, *Penicillium*, antibacterianos.

ABSTRACT

Endophytic fungi are symbiotic microorganisms that inhabit plant tissues without causing damage. They produce secondary metabolites for defense and adaptation, making them an important source of natural products with biotechnological potential for the development of new drugs. Currently, the search for new antibacterial drugs is crucial due to the increasing bacterial resistance to available antibiotics. In this context, preliminary studies conducted at LaPNEM identified a promising strain, *Penicillium cataractarum* 5IP2F4, which demonstrated potential for action against the bacterium *Staphylococcus aureus*. In light of this, the present work aimed to cultivate the endophyte *P. cataractarum* 5IP2F4, previously isolated from *Bromelia balansae* collected in the Pantanal, using the One Strain Many Compounds (OSMAC) strategy and annotating the compounds present in the extracts. Chemical characterization of crude extracts obtained from the supernatants (sCE) and mycelial biomass/mycelia (mCE) of liquid culture was performed in the following media: potato-dextrose broth (PDB), commercial PDBc, yeast-peptone-dextrose extract (YPD), and Sabouraud (SAB), in search of new molecules, whose chemical profiles were analyzed by high-performance liquid chromatography coupled to a diode array detector and mass spectrometry. Compounds from the extracts were noted, such as coumarins tetrahydroxy-methyl-dihydroisocoumarin and trihydroxy-methyl-dihydroisocoumarin, which were produced in greater quantities in potato media, in addition to the cyclopeptide desferrichrome, produced by the mycelia in all 4 media, as well as citric acid, tyrosine, and adenosine. The YPD medium showed the highest yields of extracts and biomass, indicating more favorable nutritional conditions for growth, while metabolite production was more stimulated in potato media, even with a simpler composition. The chromatograms obtained from the extracts revealed different peaks between the media; furthermore, it was possible to observe a greater production of compounds by the fungus in the sCE compared to the mCE. With these results, the research also allowed for a greater understanding of the species, as there is insufficient data on *P. cataractarum*, as well as on the chemical composition of the endophyte community in the southern Pantanal region of Mato Grosso do Sul, highlighting the importance of conserving the biome.

Keywords: natural products, fungi, endophytes, *Penicillium*, antibiotics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estruturas químicas dos fármacos penicilina G (1), lovastatina (2) e ácido fusídico (3)	13
Figura 2.	Estruturas químicas de importantes metabólitos fúngicos e derivados de relevância terapêutica	16
Figura 3.	Exemplos de antibióticos descobertos a partir de microrganismos	20
Figura 4.	Gráfico dos antibacterianos aprovados por fonte	21
Figura 5.	Estruturas químicas da teixobactina (15) e darobactina (16)	21
Figura 6.	Substâncias antibacterianas originadas de fungos endofíticos beauvericina (17) e fusariuminas C (18) e D (19) e suas respectivas fontes fúngicas e atividade antibacteriana	22
Figura 7.	Estruturas químicas de compostos antibacterianos de distintas classes, isolados de fungos endofíticos: 6-formamida-chetomina (20), GKK1032C (21), palmaerona E (22), 5-(undeca-3',5',7'-trien-1'-yl)furan-2-ol (23), cloropreussomerinas A (24) e B (25), cladosporol H (26), isoversicolorina C (27), metil helvolato (28), chermesinas A (29) e B (30), koniginol B (31), colletotrichona A (32) e três derivados ciclopentenônicos (33), (34) e (35) e suas atividades antibacterianas ...	23
Figura 8.	Estruturas químicas de novos derivados piperazínicos helvamidas B (36) e C (37) obtidos com a aplicação de OSMAC e suas atividades biológicas	26
Figura 9.	Estruturas químicas de compostos produzidos por endófitos do gênero <i>Penicillium</i> : emodina (38), ácidos secalônicos B (39) e D (40), citrinina (41) e ácido erubescensoico (42) e suas atividades antibiofilme	27
Figura 10.	Estruturas químicas de compostos produzidos por endófitos do gênero <i>Penicillium</i> : penibenzonas A (43), B (44) e C (45), penibenzofenonas A (46) e B (47), (E)-terc-butil(3-cinamamidopropil)carbamato (48)	28
Figura 11.	Estruturas químicas de compostos produzidos por endófitos do gênero <i>Penicillium</i> : eupenicinicois C (49) e D (50), pencitrinol (51), penicofrazinas B (52) e C	

(53) e penicofeazina A (54)	29
Figura 12. Estruturas químicas de compostos antivirais produzidos por endófitos do gênero <i>Penicillium</i>	29
Figura 13. Fotos da cepa <i>Penicillium cataractarum</i> 5IP2F4 cultivada em meio sólido ágar batata-dextrose BDA	30
Figura 14. Foto de <i>Bromelia balansae</i> Mez coletada em Corumbá - MS	32
Figura 15. Crescimento do fungo endofítico <i>Penicillium cataractarum</i> 5IP2F4 nos meios de cultivo líquidos CBD (A), SAB (B), LPD (C) e CBDc (D) (OSMAC) após 21 dias	34
Figura 16. Esquema resumido do cultivo do <i>Penicillium cataractarum</i> 5IP2F4 em diferentes meios líquidos e a obtenção dos extratos de sobredadante (EBsob) e de biomassa micelial (EBmic)	36
Figura 17. Estruturas de compostos anotados nos extratos do <i>P. cataractarum</i> .	41
Figura 18. Mapa de calor dos compostos anotados por área de pico nos meios líquidos	45
Figura 19. Cromatogramas de pico base obtidos em modo de ionização positivo dos extratos de sobrenadante (EBsob) do <i>Penicillium cataractarum</i> 5IP2F4 a partir dos cultivos nos meios submersos LPD (A), CBDc (B), CBD (C) e SAB (D)	46
Figura 20. Cromatogramas de pico base obtidos em modo de ionização negativo dos extratos de sobrenadante (EBsob) do <i>Penicillium cataractarum</i> 5IP2F4 a partir dos cultivos nos meios submersos LPD (A), CBDc (B), CBD (C) e SAB (D)	47
Figura 21. Cromatogramas de pico base obtidos em modo de ionização positivo dos extratos de biomassa micelial (EBmic) do <i>Penicillium cataractarum</i> 5IP2F4 a partir dos cultivos nos meios submersos LPD (A), CBDc (B), CBD (C) e SAB (D) .	48
Figura 22. Cromatogramas de pico base obtidos em modo de ionização negativo dos extratos de biomassa micelial (EBmic) do <i>Penicillium cataractarum</i> 5IP2F4 a partir dos cultivos nos meios submersos LPD (A), CBDc (B), CBD (C) e SAB (D) .	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Massas e rendimentos dos extratos brutos de sobrenadante (EBsob) e biomassa micelial (EBmic) do <i>Penicillium cataractarum</i> 5IP2F4	37
Tabela 2. Compostos anotados nos extratos de sobrenadante (EBsob) e de biomassa micelial (EBmic) do <i>Penicillium cataractarum</i> analisados por CLAE-DAD-EM	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

λ_{max}	Absorbância máxima
ABA	Ácido abscísico
AcOEt	Acetato de etila
BDA	Ágar batata-dextrose
BLASTn	<i>Basic Local Alignment Search Tool for Nucleotides</i>
BOD	Demanda biológica de oxigênio
CBD	Caldo batata-dextrose
CBDc	Caldo batata-dextrose comercial
CIM	Concentração inibitória mínima
CLAE-DAD-EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos e espectrômetro de massas
CRPA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a carbapenêmicos
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EB	Extrato bruto
EBmic	Extrato bruto de biomassa micelial
EBsob	Extrato bruto de sobrenadante
ESI	Ionização por eletrospray
ESKAPE	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Enterobacter</i> spp.
FM	Fórmula molecular
GenBank	<i>Genetic Sequence Database</i>
HBV	Vírus da hepatite B
HCV	Vírus da hepatite C
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade-colesterol
HEK-293	Células renais embrionárias humanas normais
IC50	Concentração inibitória de 50%
ITS	Espaçador transcrito interno
LaPNEM	Laboratório de Produtos Naturais e Espectrometria de Massas
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade-colesterol
LPD	Extrato de levedura-peptona-dextrose

MeOH	Metanol
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
MS	Metabólito secundário
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
OMS	Organização Mundial de Saúde
OSMAC	<i>One Strain Many Compounds</i>
PC-3	Células de câncer de próstata humano
PKS-I	Policetídeo sintase tipo I
PN	Produto natural
PTFE	Politetrafluoretileno
QS	<i>Quorum sensing</i>
Q-TOF	Analisadores quadrupolo e tempo de voo
rDNA	Ácido desoxirribonucleico ribossomal
SAB	<i>Sabouraud</i>
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
TEF-1alfa	Fator de alongamento da translação 1-alfa
TR	Tempo de retenção
UFLC	Cromatografia líquida ultrarrápida
US	Ultrassom
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1	Infecções bacterianas	17
2.2	Antibacterianos originados de microrganismos	19
2.3	Substâncias antibacterianas a partir de fungos endofíticos	22
2.4	<i>One Strain Many Compounds</i> (OSMAC)	24
2.5	Endófitos do gênero <i>Penicillium</i>	27
2.6	<i>Penicillium cataractarum</i>	30
3.	OBJETIVOS	31
3.1	Objetivos gerais	31
3.2	Objetivos específicos	31
4.	METODOLOGIA	31
4.1	Obtenção, seleção e identificação do fungo	31
4.2	Identificação molecular do isolado 5IP2F4	32
4.3	Cultivo do <i>Penicillium cataractarum</i> 5IP2F4	33
4.4	Extração dos sobrenadantes	35
4.5	Extração das biomassas miceliais	35
4.6	Análises dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos e espectrômetro de massas (CLAE-DAD-EM)	36
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	Rendimentos dos cultivos e dos extratos	37
5.2	Anotação dos compostos presentes nos extratos	38
5.3	Comparação dos perfis químicos obtidos na estratégia de OSMAC	44
6.	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
	ANEXO A - Laudo de identificação molecular	57

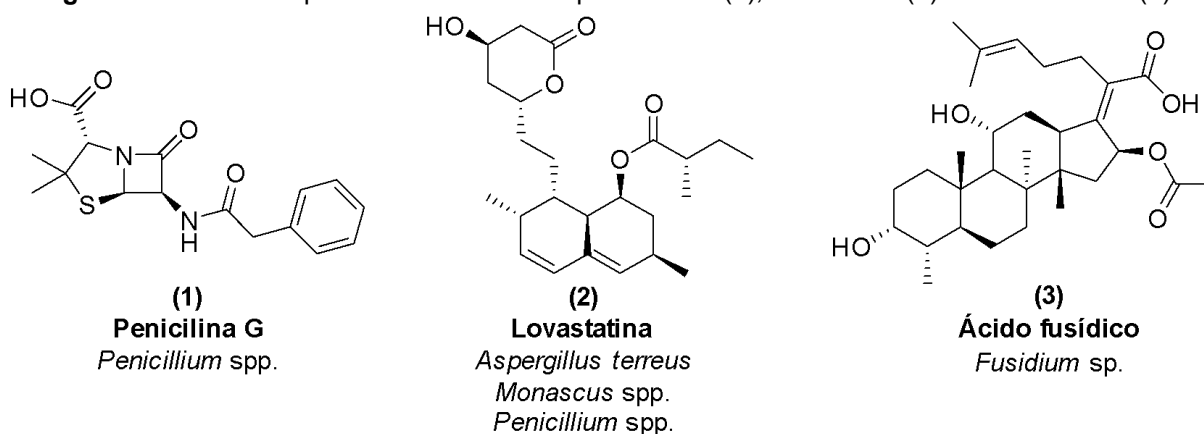
1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais (PNs) para a bioprospecção de compostos com potencial para novos candidatos a fármacos é uma alternativa de grande relevância, visto que essa é uma fonte promissora para a obtenção de substâncias bioativas conforme tem sido descrito em levantamentos realizados por Newman e Cragg (2020a; 2020b). Diversas classes químicas ocorrem entre os PNs obtidos de diferentes fontes, o que proporciona variados mecanismos de ação e possibilita maiores chances de se desenvolver estratégias eficazes para combater, por exemplo, bactérias patogênicas, uma vez que estas vêm se tornando cada vez mais resistentes aos tratamentos com os antibióticos existentes, sendo um grave problema de saúde pública (DAI *et al.*, 2020; DANQUAH *et al.*, 2022).

De acordo com o relatório da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2022) acerca da resistência a antibacterianos, mais da metade das infecções bacterianas fatais tornou-se resistente aos tratamentos convencionais e um quarto dos casos de *Escherichia coli* já apresenta resistências. Por essa razão, a OMS tem estimulado pesquisas nesta área, visando a melhoria da saúde da população. Consoante a isso, um artigo realizado por Miller e Arias (2024) mostrou que em 2019 houve aproximadamente 5 milhões de mortes por infecções bacterianas resistentes, o que reforça a necessidade de novos agentes antimicrobianos. Dentre as principais bactérias causadoras destas infecções estão as denominadas ESKAPE que são *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.

A busca por novos antibióticos frente à resistência bacteriana torna essencial o estudo de metabólitos oriundos de plantas, microrganismos e animais (ATTIA *et al.*, 2022; CONRADO *et al.*, 2022). Os microrganismos, a exemplo dos fungos, em razão de sua ampla gama de *habitats*, precisam competir por espaço e nutrientes contra outros fungos, bactérias e animais e consequentemente esses seres desenvolveram mecanismos químicos de sobrevivência, o que pode explicar sua capacidade de biossintetizar substâncias com atividades biológicas promissoras. Neste contexto, vale destacar o uso de cepas fúngicas para a obtenção de importantes medicamentos como a penicilina G (**1**), a lovastatina (**2**) e o ácido fusídico (**3**) (**Figura 1**) cujas fontes microbianas estão na imagem (HYDE *et al.*, 2019).

Figura 1 - Estruturas químicas dos fármacos penicilina G (1), lovastatina (2) e ácido fusídico (3)



Fonte: Adaptado de Hyde *et al.* (2019)

Uma classe de microrganismos que vem sendo explorada e possui grande potencial para se encontrar novos fármacos são os fungos endofíticos. Esses fungos ocorrem no interior de plantas sem causar prejuízos a suas hospedeiras e são correlacionados a diversos efeitos benéficos para a planta hospedeira, como estimular seu crescimento e adaptação a fatores bióticos e abióticos (FREDIANSYAH *et al.*, 2022).

Os endófitos dos biomas brasileiros são ainda pouco investigados, principalmente do bioma Pantanal que teve apenas algumas plantas estudadas com relação ao potencial químico de seus endófitos (ASSAD *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2023a). Portanto, faz-se necessário o estudo destes microrganismos, uma vez que as informações sobre eles são limitadas e em decorrência da urgência de novos antibióticos contra infecções por bactérias multirresistentes, eles podem ser uma fonte valiosa de novos ativos nesta área. Os fungos também apresentam relativa facilidade para serem cultivados, o que torna viável a produção em maior escala a partir de processos fermentativos (HYDE *et al.*, 2019).

Além disso, o emprego de microrganismos como fonte de recursos está diretamente ligado aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), pois contribui para o desenvolvimento da ciência, tecnologia e inovação, bem como possibilita a elaboração de novos fármacos que proporcionam saúde e bem-estar à comunidade (OLIVEIRA *et al.*, 2022; AKINSEMOLU, 2018). Também, promove a produção sustentável (ambiental, econômica, social), visto que os PNs são renováveis, gerando menos impacto ao meio ambiente (AKINSEMOLU, 2018; HYDE *et al.*, 2019).

Diante o exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial da produção de metabólitos pelo fungo endofítico *Penicillium cataractarum* 5IP2F4, isolado de *Bromelia balansae* Mez (Bromeliaceae) coletada no Pantanal sul-mato-grossense.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Desde os primórdios da humanidade, o uso de PNs foi essencial para a sobrevivência do homem, uma vez que as plantas medicinais, por exemplo, foram um dos primeiros recursos utilizados para o tratamento de sintomas em enfermos e recuperação da saúde (HYDE *et al.*, 2019; RIBEIRO *et al.*, 2021). Com o desenvolvimento das civilizações, a medicina popular baseada em PNs foi se aprimorando e, com o passar dos séculos, foram reportados estudos revelando a química desses organismos e seus derivados. A partir disso, as aplicações terapêuticas foram sendo determinadas, ao passo que inúmeros compostos bioativos foram descobertos e muitos se tornaram fármacos empregados no manejo de condições patológicas (KHAN, 2018; DAI *et al.*, 2020).

As plantas e os microrganismos são produtores de metabólitos secundários (MSs), como terpenoides, fenólicos, alcaloides e quinonas, além de peptídeos, os quais apresentam atividades biológicas uma vez que possuem estruturas químicas compatíveis com alvos moleculares, tais como receptores e enzimas. Com isso, o potencial farmacológico desses compostos pode ser marcado não apenas pela interação com os sistemas biológicos humano, animal e vegetal mas, também, pela ação sobre bactérias, fungos, vírus e protozoários, os quais podem afetar a saúde humana e de outros seres (CONRADO *et al.*, 2022; FREDIANSYAH *et al.*, 2022; OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Além disso, a biodiversidade botânica oferece misturas complexas de PNs, produzidos tanto pelas plantas quanto por seus microrganismos endofíticos, o que pode conferir efeitos terapêuticos sinérgicos com ação em diferentes sítios farmacológicos dos organismos (ATANASOV *et al.*, 2021). Dessa forma, considerando a ampla aplicabilidade dos PNs, novas possibilidades de investigação biotecnológica podem ser exploradas.

Com o avanço científico, técnicas analíticas mais robustas e sensíveis passaram a permitir a caracterização de compostos bioativos de forma mais rápida e

eficiente. Paralelamente, métodos de modificação estrutural possibilitaram o desenvolvimento de novos fármacos a partir dessas moléculas, ampliando o potencial terapêutico derivado de fontes naturais (KHAN, 2018).

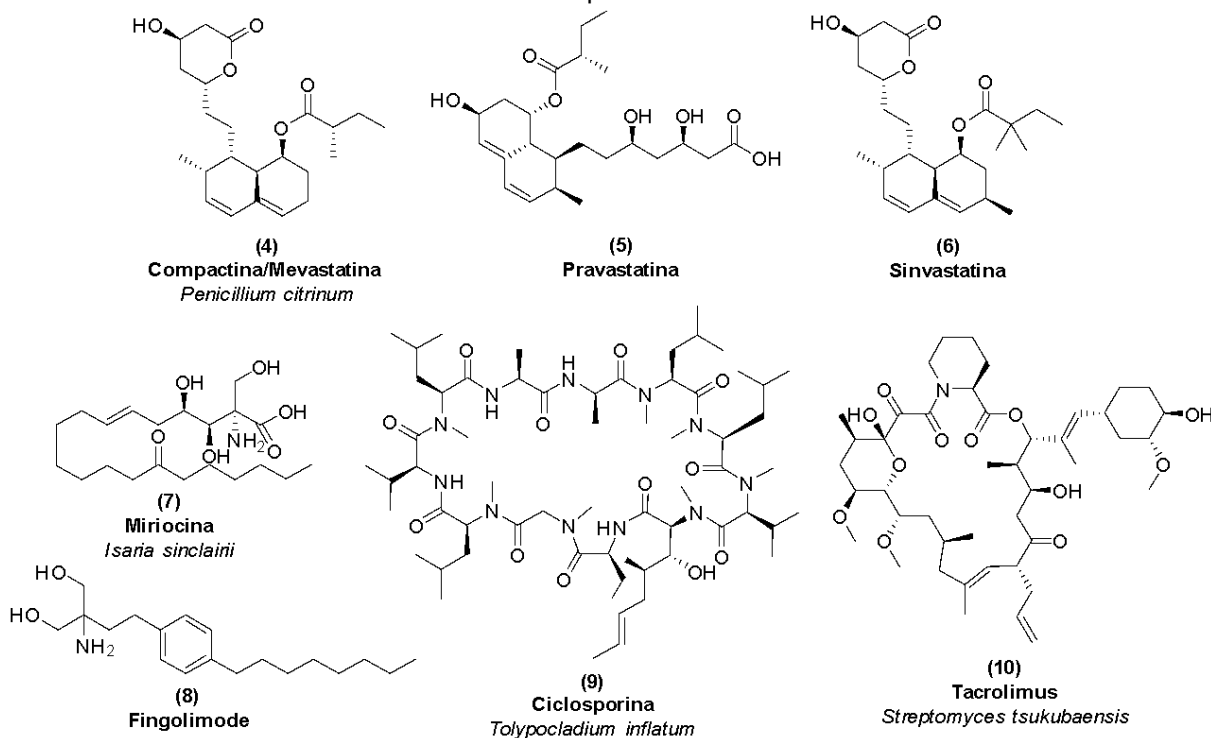
Diante disso, uma revisão feita por Newman e Cragg (2020a) mostrou que entre os anos de 1981 e 2019 diversos fármacos foram aprovados, dos quais 23,5% eram PNs e derivados e 25,7% semissintéticos com grupo farmacofórico advindo de PN e/ou miméticos (semelhantes a estruturas de PNs).

Essa relevância dos PNs no desenvolvimento de fármacos é ainda mais significativa na área dos fármacos antibacterianos aprovados, no qual os PNs correspondem a 55,6% desses fármacos, sendo que os microrganismos representam uma promissora fonte nesta área (NEWMAN; CRAGG, 2020a).

Além disso, conforme observado, dentre os produtores de PNs destacam-se os microrganismos, e outra vantagem da aplicação deles visando a obtenção de PNs é a manipulação genética, na qual genes modificados podem ser introduzidos a eles tanto para estimular a biossíntese de novos compostos como para otimizar uma larga escala de produção de um composto alvo utilizando, por exemplo, a expressão heteróloga (ATANASOV *et al.*, 2021).

Os microrganismos possuem notável capacidade de biossintetizar substâncias únicas, complexas (ZHENG *et al.*, 2021; HIFNAWY *et al.*, 2020) e farmacologicamente ativas. Por exemplo as estatinas lovastatina (**2**) (**Figura 1**) e compactina/mevastatina (**4**), pelas quais derivaram a pravastatina (**5**) e sinvastatina (**6**) usadas na terapêutica para reduzir os níveis de lipoproteína de baixa densidade-colesterol (LDL-c), bem como elevar os níveis de lipoproteína de alta densidade-colesterol (HDL-c), diminuindo o risco de desenvolvimento da doença cardiovascular aterosclerótica (SADOWSKA *et al.*, 2024). Outros exemplos relevantes incluem alguns imunossupressores como: o derivado da miriocina (**7**) fingolimode (**8**), usado no tratamento da esclerose múltipla; a ciclosporina (**9**) e o tacrolimus (**10**) (**Figura 2**), cujas fontes microbianas são apresentadas na imagem (CHIBA, 2020).

Figura 2 - Estruturas químicas de importantes metabólitos fúngicos e derivados de relevância terapêutica



Fonte: Adaptado de Sadowska *et al.* (2024) e Chiba (2020)

Os microrganismos são seres microscópicos presentes nos mais diversos ambientes, incluindo fungos, bactérias, arqueias e protozoários. Dentre estes microrganismos existem os endófitos, que colonizam o interior de vegetais sem causar patologias à planta hospedeira e em sua maioria mediam a biossíntese de compostos no hospedeiro em resposta a estímulos exteriores, visando a defesa ou a comunicação (NEWMAN; CRAGG, 2020b; OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Ante o exposto, os MSs biossintetizados pelos microrganismos, em especial pelos endofíticos, podem apresentar diversas atividades biológicas, incluindo ação antibacteriana, seja como um antibiótico clássico e de espectro variado ou pela inibição da formação de biofilme (HYDE *et al.*, 2019). Dentre esses compostos produzidos por microrganismos, podemos destacar: terpenos, alcaloides, esteroides, quinonas, xantonas, peptídeos, fenóis, flavonoides, policetídeos, entre outros. Esses microrganismos endofíticos são amplamente distribuídos na natureza, habitando plantas terrestres e aquáticas em todas as regiões do planeta, desde as zonas polares até as tropicais (ZHENG *et al.*, 2021).

A cepa fúngica utilizada no presente estudo, *Penicillium cataractarum* 5IP2F4, foi obtida de uma espécie vegetal coletada no Pantanal sul-mato-grossense pelo

grupo de pesquisa do Laboratório de Produtos Naturais e Espectrometria de Massas (LaPNEM). O Pantanal é a maior planície inundável do planeta, sendo considerado um *hotspot* brasileiro, uma vez que possui grande biodiversidade. Entretanto, essa biodiversidade pantaneira encontra-se atualmente ameaçada pela exploração descontrolada do ecossistema e por diversas atividades antrópicas. O conhecimento sobre os fungos endofíticos do Pantanal ainda é limitado, pois esse grupo microbiano permanece pouco explorado, apesar de seu enorme potencial como fonte de substâncias bioativas (SILVA *et al.*, 2023a, 2023c; NORILER *et al.*, 2018).

Além disso, é importante destacar que a cepa *P. cataractarum* 5IP2F4 foi previamente estudada pelo grupo de pesquisa do LaPNEM, o qual foi detectado o potencial desta espécie em produzir metabólitos com atividade antibacteriana contra *S. aureus*. Neste contexto, o estudo desenvolvido ganha relevância ao ampliar o conhecimento sobre a diversidade microbiana endofítica do Pantanal e sua composição química.

2.1 Infecções bacterianas

Há centenas de bactérias que podem causar infecções em humanos, as quais 1.513 espécies foram reportadas até o ano de 2021. Dentre elas estão tanto patogênicas obrigatórias quanto oportunistas, bem como algumas fazem parte da microbiota humana, outras estão relacionadas a demais animais, enquanto outras são de vida livre e presentes no ambiente. Elas podem invadir variados sítios do corpo e apresentam diversas formas de transmissão e mecanismos de infecção (BARTLETT *et al.*, 2022).

Alguns gêneros que abrangem espécies bacterianas de importância na saúde humana são: *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Actinomyces* e *Burkholderia*. A classe com maior número de patógenos bacterianos é a Gammaproteobacteria (BARTLETT *et al.*, 2022), a qual engloba *Acinetobacter* spp., *Escherichia* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., entre outros (WIKIMEDIA COMMONS, 2024).

À medida que o homem descobriu como tratar essas infecções, com a descoberta e o uso em grande escala dos agentes antimicrobianos, um grupo de bactérias surgiu e tem causado sérios problemas para a saúde no presente, as bactérias resistentes aos antibióticos. Essas bactérias são patógenos que se

adaptaram aos antibióticos e adjuvantes utilizados com o passar dos anos, o que está relacionado com o uso inadequado desses fármacos pela sociedade. Com isso, essas bactérias desenvolveram formas de resistência a estes medicamentos tornando o tratamento dessas infecções um grande desafio de saúde pública. Os mecanismos de resistência podem ser intrínsecos ou adquiridos, os quais são conferidos pela aquisição de genes por plasmídeos, mutações ou por fatores de hipervirulência (MILLER; ARIAS, 2024).

Estes mecanismos envolvem diversos processos, como alteração de alvos moleculares (sítio de ação dos antibióticos), produção de enzimas degradativas ou modificadoras, bombas de efluxo, redução da permeabilidade da membrana e formação de biofilmes, os quais são responsáveis pela resistência aos beta-lactâmicos, aminoglicosídeos, quinolonas, tetraciclina, entre outros antimicrobianos (MILLER; ARIAS, 2024; SIABA; CASAL; LÓPEZ-MARTÍNEZ, 2025).

Dentre as bactérias resistentes, a principal gram-positiva é a *S. aureus* resistente à metilina (MRSA), enquanto a gram-negativa é a *P. aeruginosa* resistente a carbapenênicos (CRPA). Ainda com relação às bactérias do grupo ESKAPE, outra espécie que poderia ser introduzida é a *E. coli*, uma vez que casos de infecção resistente por ela estão sendo muito reportados, além dos problemas relacionados ao tratamento quando envolve bactérias gram negativas (MILLER; ARIAS, 2024; SIABA; CASAL; LÓPEZ-MARTÍNEZ, 2025).

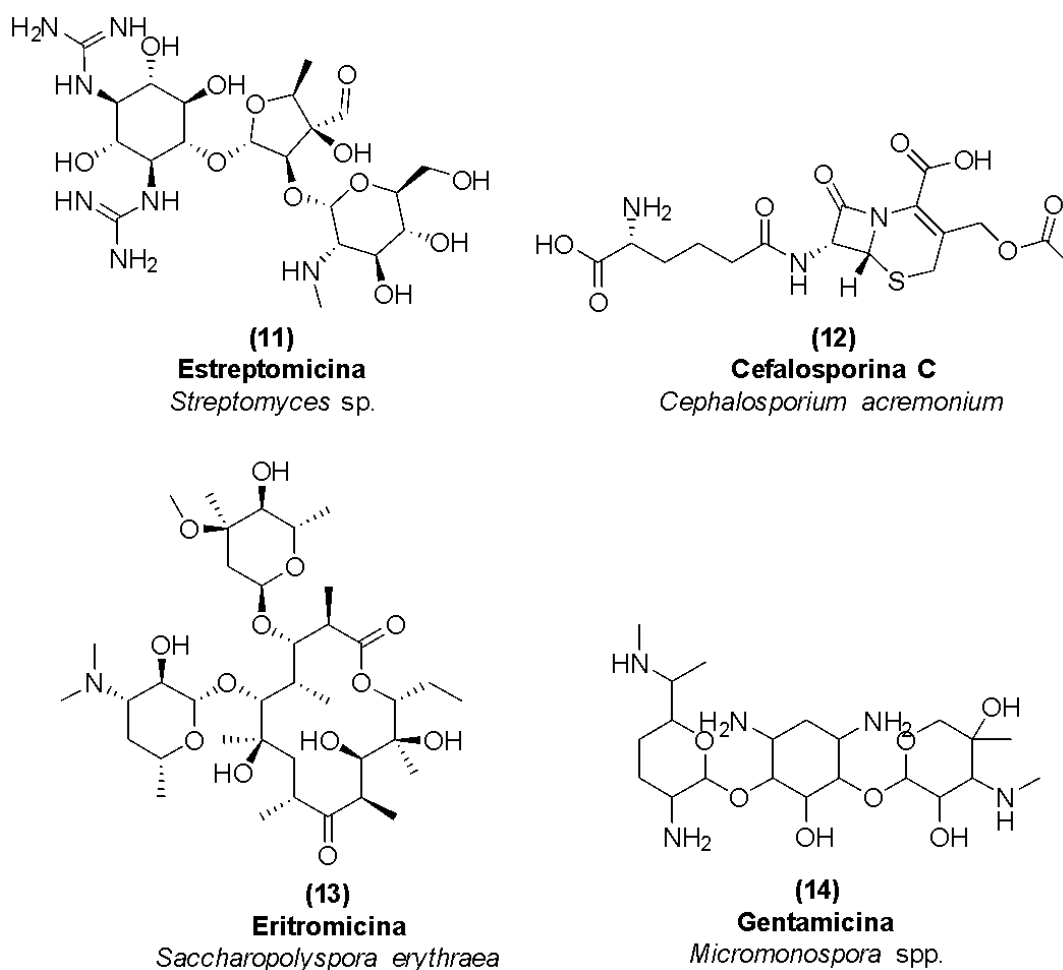
Uma das principais formas de resistência das bactérias é a formação de biofilmes, uma estrutura complexa constituída por um agregado de células bacterianas, podendo haver outros microrganismos, confinadas dentro de uma membrana autoproduzida e composta por polímeros extracelulares. Essas comunidades se aderem tanto em superfícies inanimadas, em dispositivos médicos implantados e lentes de contato, por exemplo, como em tecidos vivos. Com isso, há uma persistência da infecção e dos sintomas, mesmo com o uso dos antibióticos convencionais, uma vez que os antibióticos não atuam nas bactérias no interior dos biofilmes, o que causa recidivas de infecções. Esse mecanismo contribui para a ocorrência da maioria das infecções crônicas e hospitalares, podendo representar até 80% das infecções em humanos. As principais espécies bacterianas associadas a biofilmes são *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*, bem como o fungo *Candida albicans* (SUKMARINI; ATIKANA; HERTIANI, 2023).

Nessas infecções resistentes nas quais há a formação de biofilmes, as células bacterianas, fúngicas, entre outras, se multiplicam e atacam o hospedeiro realizando um processo de comunicação por sinalização química denominado de *quorum sensing* (QS), que implica em maior virulência e sobrevivência dos patógenos. Dessa forma, a inibição do QS e a destruição das estruturas do biofilme tornam-se alvos terapêuticos promissores, na qual a busca por PNs com novas estruturas moleculares para ligação nesses sítios de ação, anti-infectivas, é uma estratégia para combater as bactérias multirresistentes. Juntamente à investigação de novos compostos antibacterianos que atuem diretamente nas bactérias. Com isso, essa combinação pode torná-las mais suscetíveis à ação tanto dos fármacos antibacterianos, como do próprio sistema imune do hospedeiro (ATTIA *et al.*, 2022).

Em vista disso, as infecções resistentes promovem não apenas o aumento na taxa de morbimortalidade, mas também na taxa e no tempo de hospitalização globalmente. Por consequência, estes pacientes que apresentam internações hospitalares mais longas consomem mais recursos de saúde em comparação aos afetados por bactérias sensíveis. Nesse sentido, a resistência microbiana causa impactos econômicos e na saúde no mundo todo, mas de forma desproporcional em países com poucos recursos, onde os esforços de vigilância, controle de infecções e gestão de antimicrobianos são limitados, apesar de os gastos econômicos serem maiores em países mais desenvolvidos (MILLER; ARIAS, 2024; SIABA; CASAL; LÓPEZ-MARTÍNEZ, 2025).

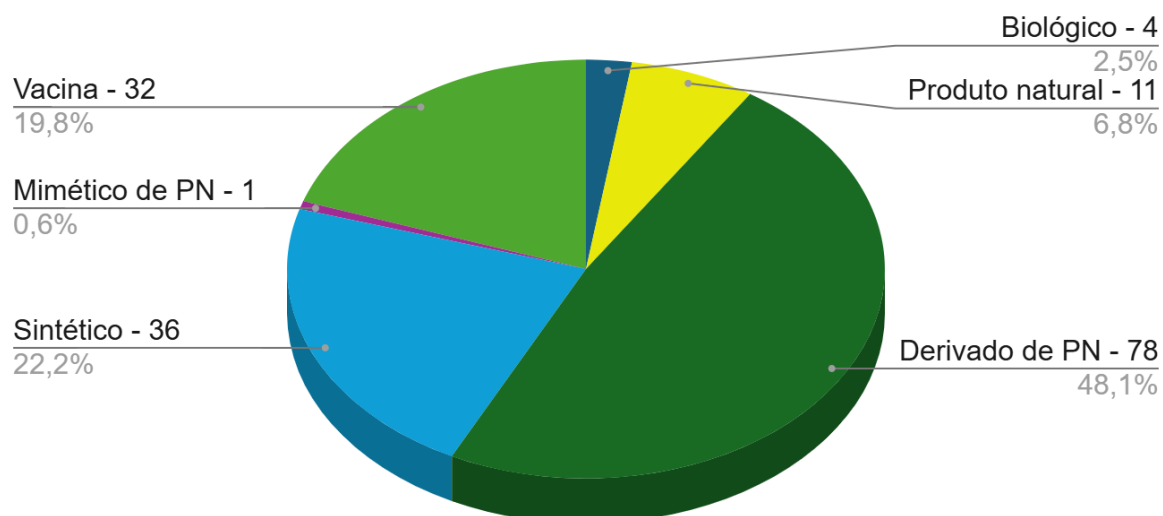
2.2 Antibacterianos originados de microrganismos

Muitos compostos antimicrobianos de várias classes são produzidos por microrganismos como bactérias e fungos. Um caso histórico de uma substância bioativa advinda de microrganismo foi a descoberta da penicilina G (**1**) (**Figura 1**), isolada em 1928, que foi o marco inicial da produção de antibióticos derivados de PNs. Outro exemplo de destaque é a estreptomicina (**11**) que é utilizada para tratar a tuberculose e foi descoberta no início da década de 40 a partir de uma bactéria. Vale citar outros exemplos como a cefalosporina C (**12**) (**Figura 3**), isolada pela primeira vez em 1948 de um fungo e a eritromicina (**13**), um antibiótico descoberto em 1952 e biossintetizado por bactéria (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019), bem como a gentamicina (**14**), reportada em 1963 (HIFNAWY *et al.*, 2020).

Figura 3 - Exemplos de antibióticos descobertos a partir de microrganismos

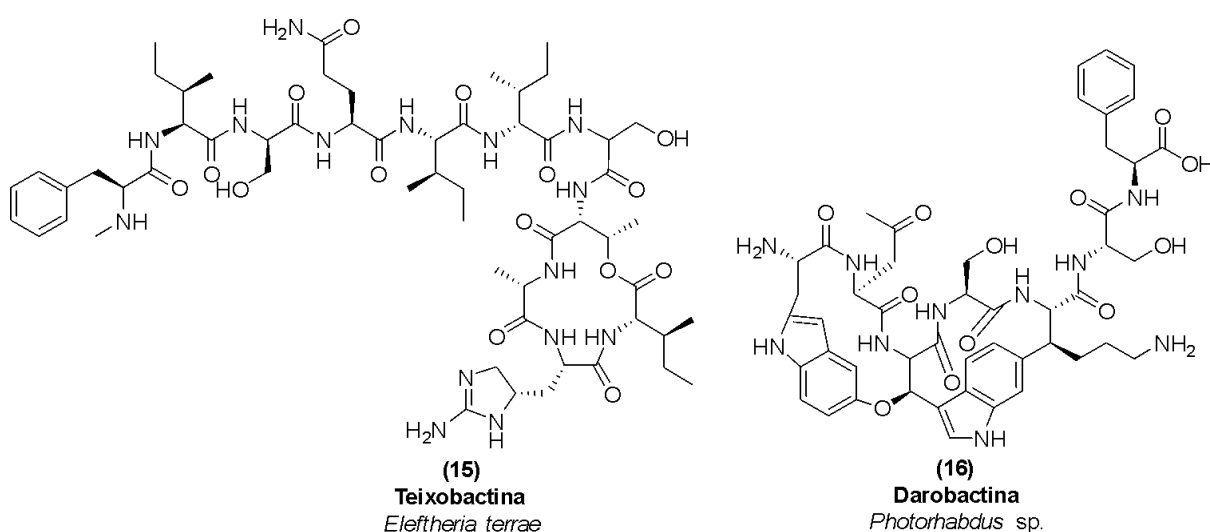
Fonte: Adaptado de Hutchings; Truman; Wilkinson (2019) e Hifnawy *et al.* (2020)

Além dos exemplos citados, é importante destacar que entre os anos de 1981 a 2019, 162 antibacterianos foram aprovados, dos quais 90 fármacos são oriundos, derivados ou inspirados a partir de PNs, além de 4 peptídeos ou proteínas de origem biológica e 32 vacinas (profilaxias) (**Figura 4**) (NEWMAN; CRAGG, 2020a). Esses dados demonstram a importância dos PNs no desenvolvimento de novos agentes para a utilização no tratamento de infecções bacterianas.

Figura 4 - Gráfico dos antibacterianos aprovados por fonte

Fonte: Adaptado de Newman e Cragg (2020a). Nota: PN = produto natural

Dentre esses fármacos antibacterianos aprovados entre 1981 e 2019, podemos citar alguns como teicoplanina, daptomicina, cefoperazona, ceftazidima, aztreonam, imipenem,azitromicina, claritromicina, rifabutina, cefepima, meropenem, ertapenem e ceftobiprole, além dos adjuvantes tazobactam, vaborbactam e relebactam que inibem as beta-lactamases, enzimas produzidas por bactérias resistentes, as quais destroem os fármacos beta-lactâmicos. Ainda, novos antibacterianos experimentais (**Figura 5**) incluem a teixobactina (**15**) e a darobactina (**16**) (NEWMAN; CRAGG, 2020a).

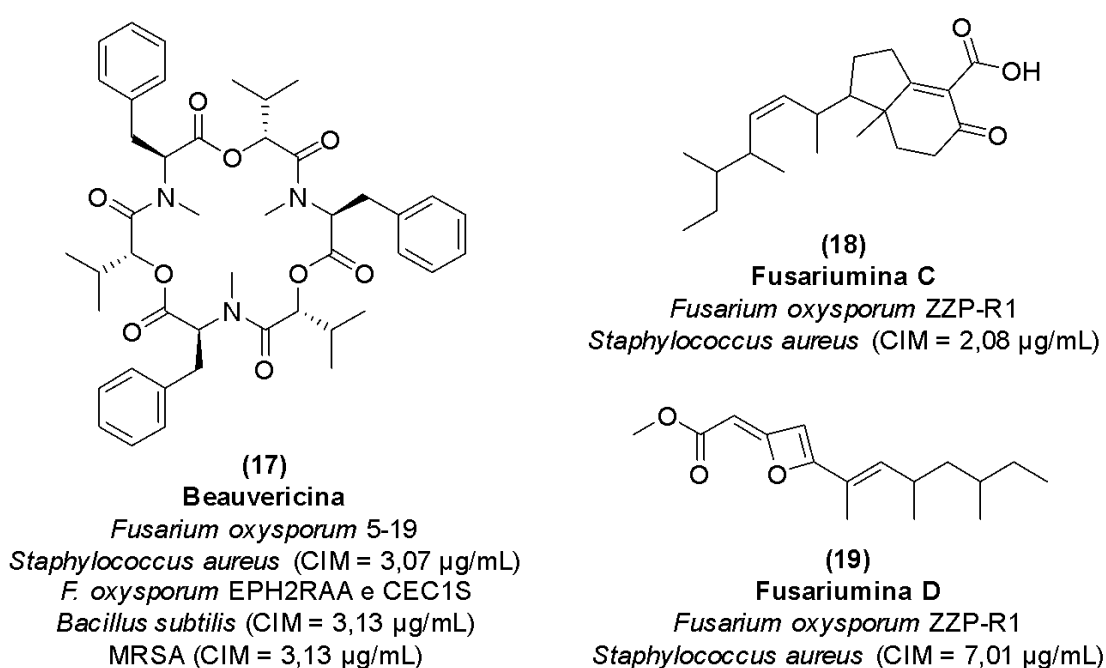
Figura 5 - Estruturas químicas da teixobactina (**15**) e darobactina (**16**)

Fonte: Adaptado de Newman e Cragg (2020a)

2.3 Substâncias antibacterianas a partir de fungos endofíticos

Os fungos endofíticos são seres microscópicos que colonizam as regiões inter e intracelulares dos tecidos vegetais (NEWMAN; CRAGG, 2020b). Considerando as espécies fúngicas, os endófitos destacam-se como uma importante fonte de MSS bioativos, pelos quais já foram isolados mais de 20.000 compostos. Dentre estes, estão alguns como o peptídeo beauvericina (16) e os terpenos fusariuminas C (17) e D (18) (Figura 6) (CONRADO *et al.*, 2022).

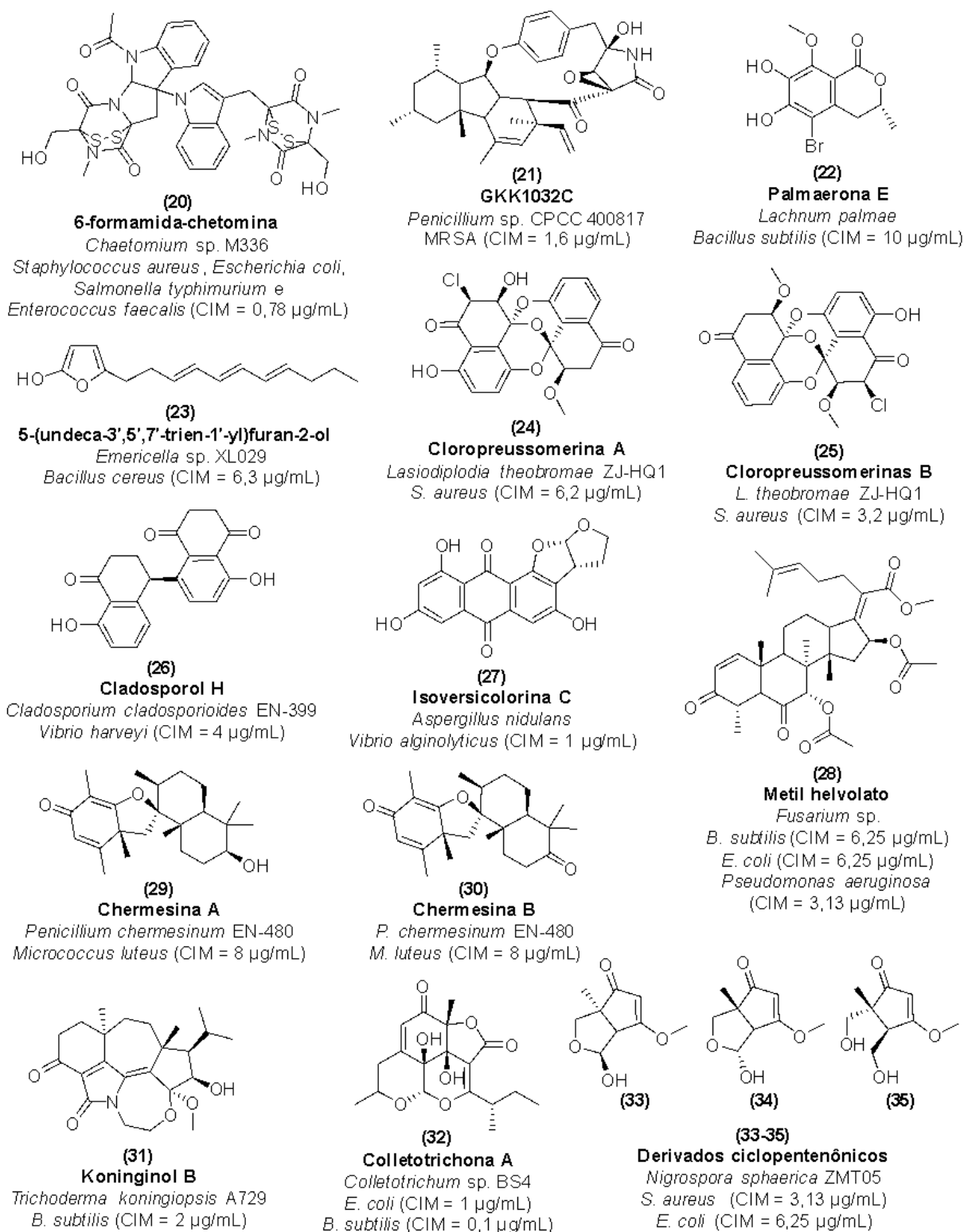
Figura 6 - Substâncias antibacterianas originadas de fungos endofíticos beauvericina (17) e fusariuminas C (18) e D (19) e suas respectivas fontes fúngicas e atividade antibacteriana



Fonte: Adaptado de Conrado *et al.* (2022). Nota: CIM = concentração inibitória mínima

Outros compostos antibacterianos reportados e oriundos de fungos endofíticos são: os alcaloides 6-formamida-chetomina (20) e GKK1032C (21), a cumarina palmaerona E (22), o composto lipóide 5-(undeca-3',5',7'-trien-1'-yl)furan-2-ol (23), as quinonas cloropreussomerinas A (24), B (25), cladosporol H (26) e isoversicolorina C (27), o esteroide éster metílico do ácido helvólico ou metil helvolato (28), os terpenoides chermesinas A (29), B (30) e koniginol B (31), a azafilona colletotrichona A (32) e três derivados ciclopentenônicos/cetonas cíclicas (33), (34) e (35) (Figura 7) (DAI *et al.*, 2020).

Figura 7 - Estruturas químicas de compostos antibacterianos de distintas classes, isolados de fungos endofíticos: 6-formamida-chetomina (**20**), GKK1032C (**21**), palmaerona E (**22**), 5-(undeca-3',5',7'-trien-1'-yl)furan-2-ol (**23**), cloropreussomerinas A (**24**) e B (**25**), cladosporol H (**26**), isoversicolorina C (**27**), metil helvolato (**28**), chermesinas A (**29**) e B (**30**), koninginol B (**31**), colletotrichona A (**32**) e três derivados ciclopentenônicos (**33**), (**34**) e (**35**) e suas atividades antibacterianas



Fonte: Adaptado de Dai *et al.* (2020). Nota: CIM = concentração inibitória mínima

Dessa forma, conforme observado, os endófitos representam uma fonte promissora, renovável e diversificada de MSs com vasto potencial terapêutico e biotecnológico, oferecendo um arsenal químico a ser explorado, bem como perspectivas inovadoras para a bioprospecção de novos compostos bioativos, especialmente, antibacterianos (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

A capacidade biossintética dos endófitos é induzida por ativação de genes que podem ser silenciados ou expressos dependendo dos fatores bióticos e abióticos que a espécie hospedeira está submetida. Isso somado ao fato de o conjunto de endófitos diferir consideravelmente entre áreas distintas (localidades), torna única a diversidade das cepas e da composição das substâncias que estas podem produzir. Dessa forma, é de extrema importância a investigação da variedade endofítica brasileira devido à exclusividade química e genética, tanto para a geração de dados científicos que podem auxiliar em estudos futuros, como para a preservação dos biomas brasileiros e o impulsionamento da bioeconomia com o desenvolvimento de novos bioprodutos e bioprocessos (RIBEIRO *et al.*, 2021).

Assim como ocorre em outras regiões do mundo, os fungos endofíticos no Brasil são pouco conhecidos e há escassez de informações sobre a composição química biossintetizada por eles, representando uma abundante fonte de novos compostos com atividades biológicas a serem estudados. Os fungos endofíticos, obtidos de espécies vegetais brasileiras, já são utilizados para a obtenção de produtos farmacêuticos e agroquímicos (RIBEIRO *et al.*, 2021). Entretanto, trata-se de uma área ainda sub-explorada e que merece destaque para que mais estudos sejam realizados, especialmente diante da possibilidade de gerar renda à população local e subsídio para implementação de políticas de conservação da flora e fauna (SILVA *et al.*, 2023a).

2.4 One Strain Many Compounds (OSMAC)

A obtenção de cepas fúngicas para a biossíntese de compostos com atividade biológica ocorre através do isolamento do fungo, advindo de diversas fontes ambientais. Depois, realiza-se o cultivo deste, a extração dos compostos produzidos e posteriormente são realizados estudos biológicos, podendo haver etapas de purificação, caracterização química e ensaios pré-clínicos. Nessas etapas e processos, várias estratégias e tecnologias podem ser utilizadas, visando conseguir

tanto uma grande variedade de compostos biossintetizados quanto otimizar a produção de compostos alvo. Pode-se realizar o cultivo mimetizando ou alterando as condições naturais de crescimento, selecionar meios de cultura, além de técnicas e solventes de extração mais adequados, como fracionamento dos extratos (CONRADO *et al.*, 2022; ATANASOV *et al.*, 2021).

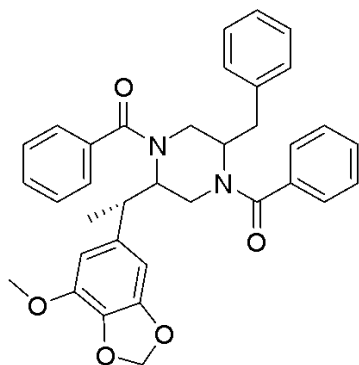
Para ativar determinadas vias biossintéticas e induzir agrupamentos de genes silenciados no intuito de aumentar a produção de MSs por fungos e expandir a diversidade química, diversas abordagens podem ser aplicadas, como *One Strain Many Compounds* (OSMAC), co-cultura microbiana, modificação epigenética, adição de moléculas elicitoras e outros métodos baseados em biologia molecular. O método OSMAC, muito usado em laboratórios devido a sua eficácia e fácil execução, baseia-se na alteração dos parâmetros de cultivo para modificar e ampliar o perfil químico de uma cepa, aumentando sua variabilidade metabólica e possibilitando, assim, a descoberta de novos compostos ou o aumento na produção destes. Portanto, a obtenção dos MSs pode ser otimizada utilizando-se essas estratégias e explorando novas rotas biossintéticas (SILVA *et al.*, 2023c; CONRADO *et al.*, 2022).

Diante da necessidade de obtenção de novos compostos antibacterianos e anti-infectivos, com atuação sobre biofilmes e QS, a abordagem OSMAC foi aplicada no cultivo e obtenção de extratos de acetato de etila (AcOEt) da cepa de *Penicillium chrysogenum* AJEF2. Este endófito foi cultivado em diferentes meios de fermentação líquidos, no qual dois extratos obtidos de meios modificados apresentaram resultados de concentração inibitória mínima (CIM) menores que 125 µg/mL frente às bactérias multirresistentes *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*, em comparação com a ceftriaxona (256, 128 e 512 µg/mL, respectivamente). Além disso, o maior valor de inibição de biofilme obtido foi de 92,3% contra isolados clínicos de *P. aeruginosa* produtoras de biofilme por microtitulação colorimétrica. O OSMAC foi eficiente pois ao final, o fungo teve maior produção de compostos antibacterianos no meio caldo batata-dextrose modificado (ATTIA *et al.*, 2022).

Outro estudo que também utilizou o método OSMAC foi realizado por Borkunov e colaboradores (2024), o qual identificou dois novos derivados piperazínicos, helvamidas B (36) e C (37) (**Figura 8**), de uma cepa fúngica ao analisar a influência de metais como fatores de alteração do perfil metabólico do endófito. Essa estratégia, ainda, permitiu um maior rendimento de vários compostos

nos extratos fúngicos obtidos e, posteriormente, ambos os novos compostos isolados evidenciaram uma capacidade antifúngica, anticancerígena e antioxidante.

Figura 8 - Estruturas químicas de novos derivados piperazínicos helvamidas B (36) e C (37) obtidos com a aplicação de OSMAC e suas atividades biológicas

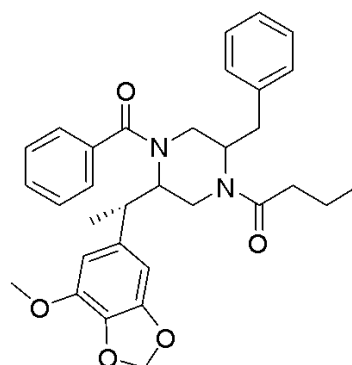


(36)

Helvamida B

Penicillium velutinum ZK-14

Viabilidade celular PC-3 diminuída (34,03%)
Viabilidade celular HEK-293 diminuída (16,64%)
Inibição crescimento *Candida albicans* (9,73%)
Eliminação de radicais DPPH (4,92%)



(37)

Helvamida C

Penicillium velutinum ZK-14

Viabilidade celular PC-3 diminuída (39,41%)
Viabilidade celular HEK-293 diminuída (28,42%)
Inibição crescimento *Candida albicans* (31,54%)
Eliminação de radicais DPPH (4,54%)

Fonte: Adaptado de Borkunov *et al.* (2024). Nota: PC-3 = células de câncer de próstata humano; HEK-293 = células renais embrionárias humanas normais; DPPH = reagente químico 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

2.5 Endófitos do gênero *Penicillium*

As espécies do gênero *Penicillium* estão entre os microrganismos terrestres e aquáticos mais disseminados no planeta (BORKUNOV *et al.*, 2024), dos quais inúmeras cepas já foram isoladas de alimentos, solo e dos mais variados ambientes. Eles possuem funções ecológicas fundamentais e sua relevância é devida tanto ao notável poder de deterioração e produção de extrólitos e micotoxinas potentes, como pela biossíntese de valiosos compostos bioativos, incluindo antibióticos (VISAGIE *et al.*, 2016).

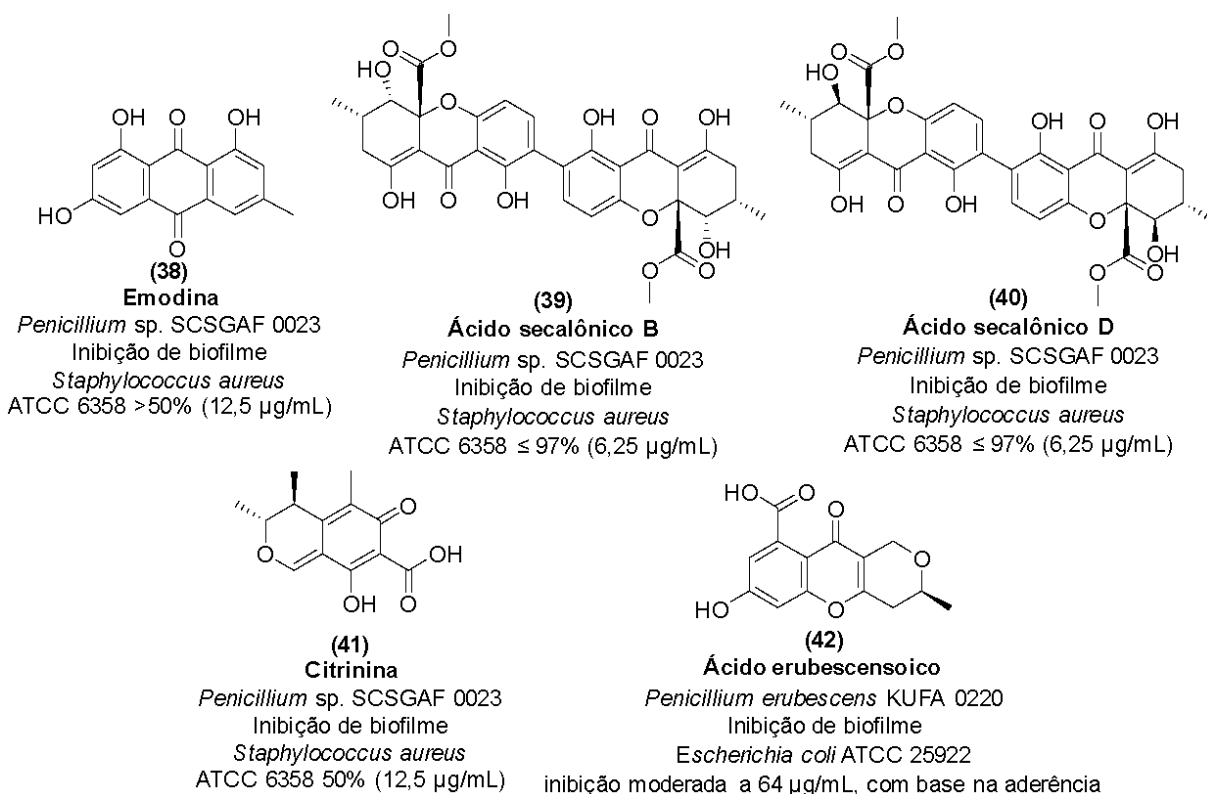
Os fungos do gênero *Penicillium* são filamentosos e muitas espécies são amplamente distribuídas nas plantas como endófitos, os quais são frequentemente isolados de folhas, raízes, caule e demais partes das plantas, conferindo às hospedeiras substâncias químicas relacionadas ao crescimento vegetal e à resistência ao estresse. Esse forte potencial metabólico é refletido na sua crescente importância para obtenção de fármacos e usos agrícolas sustentáveis (HYDE *et al.*, 2019), uma vez que desde o isolamento do primeiro antibiótico, a tendência de isolar

uma variedade de compostos dos fungos desse gênero persiste (BORKUNOV *et al.*, 2024).

Uma revisão realizada por Ribeiro e colaboradores (2021) concluiu que endófitos isolados de espécies vegetais brasileiras do gênero *Penicillium* apresentam maior produção de terpenos, com exceção da cepa de *Penicillium crustosum* F40, que demonstrou predominância na síntese de metabólitos nitrogenados. Ainda, algumas atividades biológicas observadas para os extratos do *Penicillium* incluem propriedades bactericidas, bacteriostáticas, citotóxicas, antileishmania, antifúngicas e anticolinesterase.

No levantamento efetuado por Sukmarini, Atikana e Hertiani (2023), uma cepa de endófito *Pencillium* sp. SCSGAF produziu os policetídeos emodina (38), ácidos secalônicos B (39) e D (40) e citrinina (41), os quais inibiram a formação de biofilme por *S. aureus* (Figura 9). Enquanto outra cepa de *Penicillium* produziu o ácido erubescensoico (42) que inibiu moderadamente a formação de biofilme por *E. coli*.

Figura 9 - Estruturas químicas de compostos produzidos por endófitos do gênero *Penicillium*: emodina (38), ácidos secalônicos B (39) e D (40), citrinina (41) e ácido erubescensoico (42) e suas atividades antibiofilme

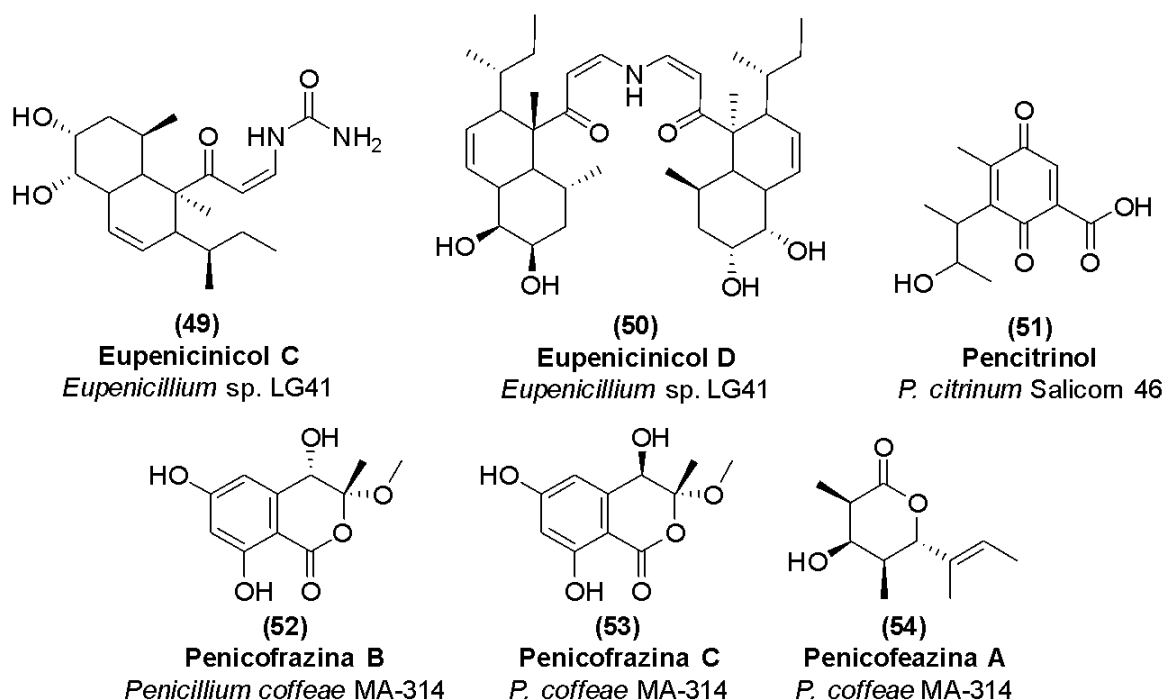


Fonte: Adaptado de Sukmarini, Atikana e Hertiani (2023)

As substâncias sorbicilinol, dihidrosorbicilinol e os derivados bisorbicilinoídeos são hexacetídeos sorbicilinoídeos que são policetídeos altamente oxigenados, derivados da via biossintética de policetídeo sintase tipo I (PKS-I). Eles são caracterizados por possuírem um esqueleto estrutural baseado em seis unidades de acetato, frequentemente ciclizado e modificado por reações oxidativas que originam anéis tipo sorbicilinol ou derivados aromáticos relacionados. Do ponto de vista biológico, os hexacetídeos sorbicilinoídeos exibem uma ampla gama de atividades farmacológicas, incluindo ações antibacteriana, antiviral, citotóxica, antioxidante e moduladora de respostas inflamatórias. Algumas cepas de *Penicillium*, como o *P. chrysogenum*, são reconhecidas como produtoras desses compostos (SALO *et al*, 2016; DERNTL *et al*, 2017).

Zheng e colaboradores (2021) compilaram alguns compostos a partir de endófitos do gênero *Penicillium* como os policetídeos penibenzonas A (43), B (44) e C (45), penibenzofenonas A (46) e B (47) e o alcaloide amida alfa,beta-insaturado (E)-terc-butil(3-cinamamidopropil)carbamato (48) (Figura 10).

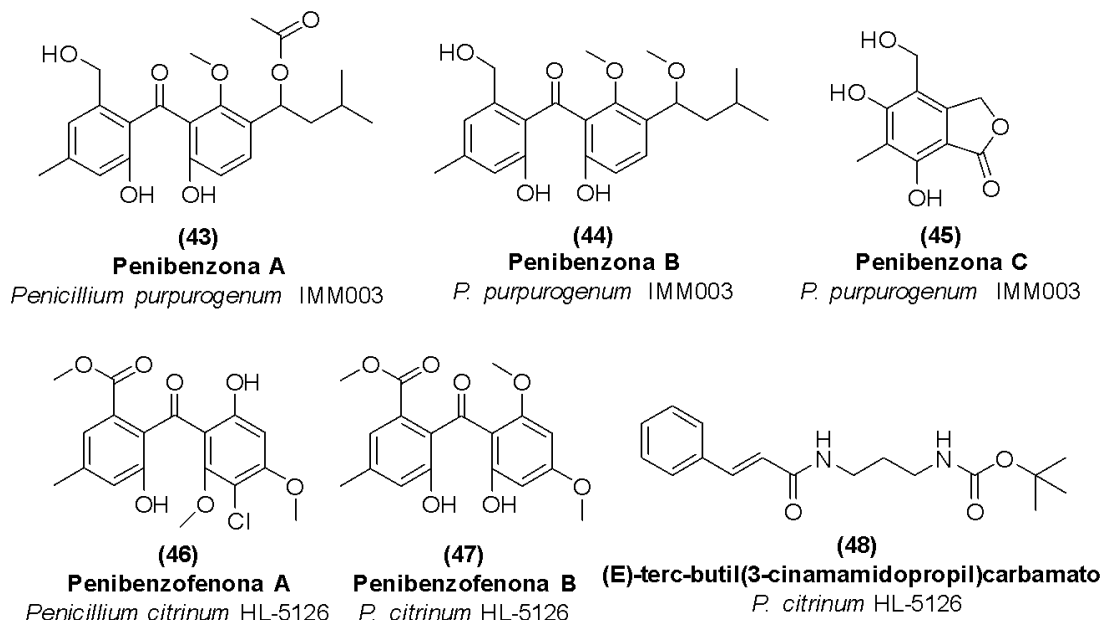
Figura 10 - Estruturas químicas de compostos produzidos por endófitos do gênero *Penicillium*: penibenzonas A (43), B (44) e C (45), penibenzofenonas A (46) e B (47), (E)-terc-butil(3-cinamamidopropil)carbamato (48)



Fonte: Adaptado de Zheng *et al.* (2021)

Bem como os policetídeos eupenicínicos C (49) e D (50), o derivado da citrinina pencitrinol (51), os derivados de isocumarina penicofrazinas B (52) e C (53) e a gama-lactona penicofeazina A (54) (Figura 11) (ZHENG *et al.*, 2021).

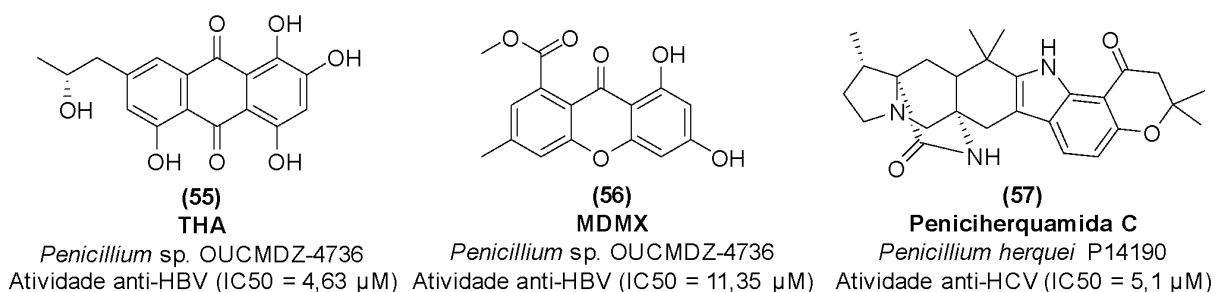
Figura 11 - Estruturas químicas de compostos produzidos por endófitos do gênero *Penicillium*: eupenicínicos C (49) e D (50), pencitrinol (51), penicofrazinas B (52) e C (53) e penicofeazina A (54)



Fonte: Adaptado de Zheng *et al.* (2021)

Foi realizado, também, o estudo acerca do efeito antiviral de PNs advindos de espécies de *Penicillium* frente aos vírus de hepatites. Foram isolados os policetídeos derivados antraquinônicos THA (55) e MDMX (56), bem como o peptídeo peniciherquamida C (57) (Figura 12) que demonstraram atividades antivirais (FREDIANSYAH *et al.*, 2022).

Figura 12 - Estruturas químicas de compostos antivirais produzidos por endófitos do gênero *Penicillium*



Fonte: Adaptado de Frediansyah *et al.* (2022). Nota: IC₅₀ = concentração inibitória de 50%; HBV = vírus da hepatite B; HCV = vírus da hepatite C

Alguns fungos endofíticos são usados como biofertilizantes, a exemplo do produto JumpStart que contém o *Penicillium bilaiae* (*Penicillium bilaii*), um

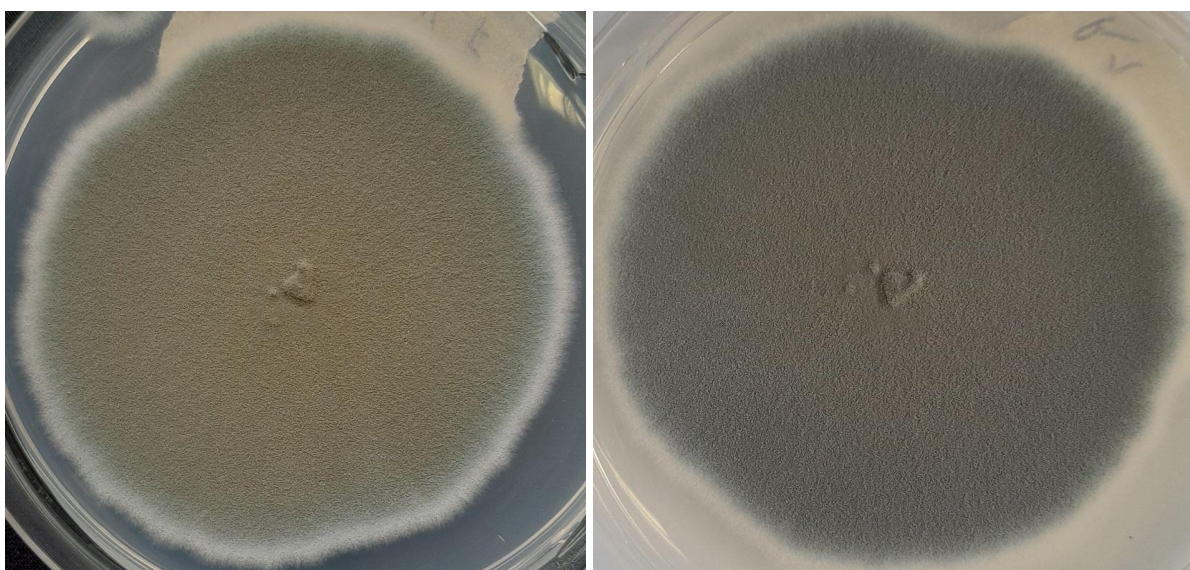
solubilizador de fósforo para o solo que melhora a absorção do mineral pelas plantas (SIMPSON, 2020). Os biofertilizantes são usados tanto para melhorar o crescimento e rendimento dos vegetais cultivados quanto para controlar pragas em plantações. Além disso, alguns endófitos são descritos como produtores de ácido abscísico (ABA), um hormônio de crescimento vegetal (HYDE *et al.*, 2019).

Outra função dos fungos é vista em processos fermentativos alimentícios. Durante o processamento do chá preto chinês foi observado que espécies endofíticas podem converter os polifenóis da planta em teabrowninas, que são compostos relacionados aos efeitos benéficos do chá após sua fermentação. Alguns dos isolados neste estudo incluíram *Penicillium* spp. Por fim, muitos fungos deste gênero produzem diversas enzimas e substâncias que podem ser úteis nas mais variadas aplicações, inclusive na produção de pigmentos (HYDE *et al.*, 2019).

2.6 *Penicillium cataractarum*

O fungo *P. cataractarum*, alvo de estudo no presente trabalho, faz parte da linhagem Eukaryota, Fungi, Ascomycota, Eurotiomycetes, Eurotiales e Aspergillaceae. Este fungo também possui sinonímia com *P. cataractum* (NIH, 2025). Em um estudo realizado por Visagie *et al.* (2016), o *P. cataractarum* foi cultivado em diferentes meios sólidos e apresentou colônias de textura flocosa e coloração branca e esverdeada, assim como a colônia obtida neste trabalho (**Figura 13**).

Figura 13 - Fotos da cepa *Penicillium cataractarum* 5IP2F4 cultivada em meio sólido ágar batata-dextrose BDA



O *P. cataractarum* 5IP2F4, isolado de *Bromelia balansae* coletada no Pantanal, foi selecionado de acordo com os resultados de uma triagem inicial para atividade antibacteriana frente a *S. aureus* ATCC 80958, a partir do extrato bruto (EB) cultivado em meio sólido de ágar batata dextrose (BDA) (SILVA *et al.*, 2023b).

Após essas análises iniciais realizadas no LaPNEM, outro trabalho desenvolvido por Sanches (2024) obteve os extratos brutos de sobrenadante (EBsob) e de biomassa micelial (EBmic) a partir do cultivo em meio líquido de batata e dextrose (CBD) e avaliou suas atividades antibacterianas frente a *S. aureus* resistente à metilicina (MRSA) ATCC 43300. O EBsob de *P. cataractarum* 5IP2F4 apresentou inibição do crescimento bacteriano de MRSA de 67%, enquanto seu EBmic mostrou 73% de inibição da formação de biofilme sem afetar seu crescimento bacteriano. Esses resultados mostram que a espécie alvo deste projeto é promissora para o desenvolvimento de estudos para avaliar de maneira mais ampla sua diversidade química.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Realizar a bioprospecção e avaliação da produção de metabólitos secundários (MSs) pelo fungo endofítico *Penicillium cataractarum* 5IP2F4.

3.2 Objetivos específicos

- Cultivar o isolado *P. cataractarum* 5IP2F4 em diferentes meios de cultura líquidos;
- Obter os extratos brutos de sobrenadantes e de biomassa micelial/micélio;
- Obter os perfis químicos dos extratos por CLAE-DAD-EM;
- Avaliar e comparar a influência do meio de cultivo nos metabólitos biossintetizados pelo *P. cataractarum* 5IP2F4;
- Anotar os compostos presentes nos extratos.

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção, seleção e identificação do fungo

O fungo utilizado nesta pesquisa faz parte da biblioteca de fungos endofíticos do LaPNEM, na UFMS. A cepa foi isolada no trabalho de doutorado em Biotecnologia da discente Fernanda Motta Ribeiro da Silva, na UFMS, os quais

foram obtidos das folhas da *Bromelia balansae* Mez (**Figura 14**), coletada no município de Corumbá - MS. Após os procedimentos de isolamento, a cepa 5IP2F4 foi armazenada em óleo mineral sob refrigeração (8° C). Este trabalho foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número AE8625B.

Figura 14 - Foto de *Bromelia balansae* Mez coletada em Corumbá - MS



Fonte: Adaptado de Silva *et al.* (2023b)

4.2. Identificação molecular do isolado 5IP2F4

A cepa fúngica 5IP2F4 foi submetida à identificação molecular. Esse processo foi realizado pela empresa GoGenetic (Paraná, Brasil) por meio do sequenciamento da região do espaçador transcrito interno (ITS) e do gene do fator de alongamento da translação 1-alfa (TEF-1 α) do ácido desoxirribonucleico ribossomal (rDNA). Para esse procedimento, foram utilizados os iniciadores (*primers*) ITS-1 (sentido *forward*), ITS-4 (sentido *reverse*) e EF1. As sequências obtidas foram então comparadas com as depositadas no banco de dados GenBank (*Genetic Sequence Database*) utilizando-se a ferramenta BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool for Nucleotides*). O laudo de análise está ilustrado no **Anexo A** e a cepa foi identificada como *Penicillium cataractarum* 5IP2F4.

4.3 Cultivo do *Penicillium cataractarum* 5IP2F4

Para evitar contaminações, em todas as etapas os materiais passíveis a esterilização por calor e vapor d'água foram submetidos à autoclavagem prévia, enquanto os demais passaram por esterilização sob luz UV (ultravioleta) em capela de fluxo laminar antes das inoculações, visando condições assépticas. Além disso, foram seguidos os protocolos de cultivo e extração utilizados por Silva (2023b), com algumas alterações e adaptações.

Primeiramente, o isolado 5IP2F4 foi reativado. Para isso, foi realizado um repique do fungo estocado em tubo com BDA inclinado e imerso em óleo mineral, ao meio BDA em placas de Petri, cuja inoculação foi realizada na capela de fluxo laminar, em duplicata e mais 1 placa sem inóculo (branco). O fungo foi cultivado em estufa a 28° C com crescimento estático, na ausência de luz e por 7 dias. Após isso, um segundo repique foi realizado a partir do cultivo anterior, a fim de eliminar todo óleo, para outras 3 placas de BDA (**Figura 13**), as quais foram mantidas nas mesmas condições anteriores de crescimento fúngico, por 7 dias.

Para o primeiro cultivo em meio submerso, em caldo batata-dextrose (CBD), visando a adaptação do fungo ao meio líquido, foi realizada a decocção de 100 g de batatas inglesas comerciais descascadas e cortadas em cubos com 500 mL de água destilada no micro-ondas por 10 segundos, 5 vezes, alternando com leve agitação manual utilizando bastão de vidro. Após este processo, as batatas foram filtradas para a obtenção do caldo, ao qual foi acrescentado 10 g de dextrose.

Em seguida este caldo foi transferido para 3 erlenmeyers de 250 mL, sendo aproximadamente 200 mL para 2 frascos (duplicata) e o restante ao frasco destinado à amostra controle-branco (sem inóculo). Estes, então, foram autoclavados junto às tampas e palitos em tubos semiabertos e após o resfriamento dos materiais, o fungo crescido na placa foi inoculado, na capela e com auxílio dos palitos, aos 2 erlenmeyers com 200 mL de CBD. O palito foi raspado na colônia fúngica e transferido aos caldos. Na sequência, os inóculos foram colocados em incubadora de demanda biológica de oxigênio (BOD) com crescimento estático, ou seja, sem rotação, na ausência de luz e a 28° C por 7 dias para o crescimento fúngico.

Após o primeiro cultivo do fungo em meio líquido, ele foi inoculado nos seguintes meios de cultura submersos (OSMAC):

- Meio líquido caldo batata-dextrose (CBD): decocção de aproximadamente 200 g/L de batata inglesa em água destilada e 20 g/L de dextrose (Dinâmica Química);
- Meio líquido caldo batata-dextrose comercial (CBDc) (KASVI): 24 g/L do pó em água destilada, conforme indicação do fabricante;
- Meio líquido extrato de levedura-peptona-dextrose (LPD): 10 g/L de extrato de levedura (TM Media), 20 g/L de peptona (KASVI), 20 g/L de dextrose (Dinâmica Química) e água destilada;
- Meio líquido *Sabouraud* (SAB): 10 g/L peptona (KASVI), 40 g/L de dextrose (Dinâmica Química) e água destilada.

Foram preparados 400 mL dos meios líquidos CBD e CBDc para inóculo e 150 mL de LPD e SAB para o inóculo e 150 mL de cada meio para as amostras controle-branco, os quais foram previamente autoclavados. Após isso, com auxílio de pipeta automática foram inoculados 8 mL de caldo do crescimento anterior em CBD (2 vezes de 4 mL) aos meios LPD e SAB, e 20 mL (5 vezes de 4 mL) ao CBD e CBDc. Na sequência, os inóculos foram incubados na BOD a 28° C, por 21 dias, passando o tempo de crescimento primário para então haver produção metabólica pelo fungo, em condições estáticas e na ausência de luz. Abaixo está o cultivo do fungo após o período mencionado (**Figura 15**).

Figura 15 - Crescimento do fungo endofítico *Penicillium cataractarum* 5IP2F4 nos meios de cultivo líquidos CBD (A), SAB (B), LPD (C) e CBDc (D) (OSMAC) após 21 dias



4.4 Extração dos sobrenadantes

Após os 21 dias do crescimento do fungo nos meios líquidos, as biomassas miceliais foram separadas por filtração com papel filtro e em seguida, os sobrenadantes passaram por extração líquido-líquido com AcOEt e 0,5% de ácido fórmico. O procedimento foi realizado em 3 extrações consecutivas para cada meio, em funis de separação com um volume de solvente extrator correspondente a $\frac{1}{3}$ do volume do sobrenadante. O ácido fórmico foi utilizado apenas na primeira extração líquido-líquido. As fases orgânicas coletadas foram reunidas, concentradas em evaporador rotativo, transferidas a microtubos de 2 mL e mantidas em dessecador para a secagem por 3 dias. A partir desses procedimentos foram obtidos os EBsob para cada meio, que foram liofilizados simultaneamente às biomassas miceliais.

4.5 Extração das biomassas miceliais

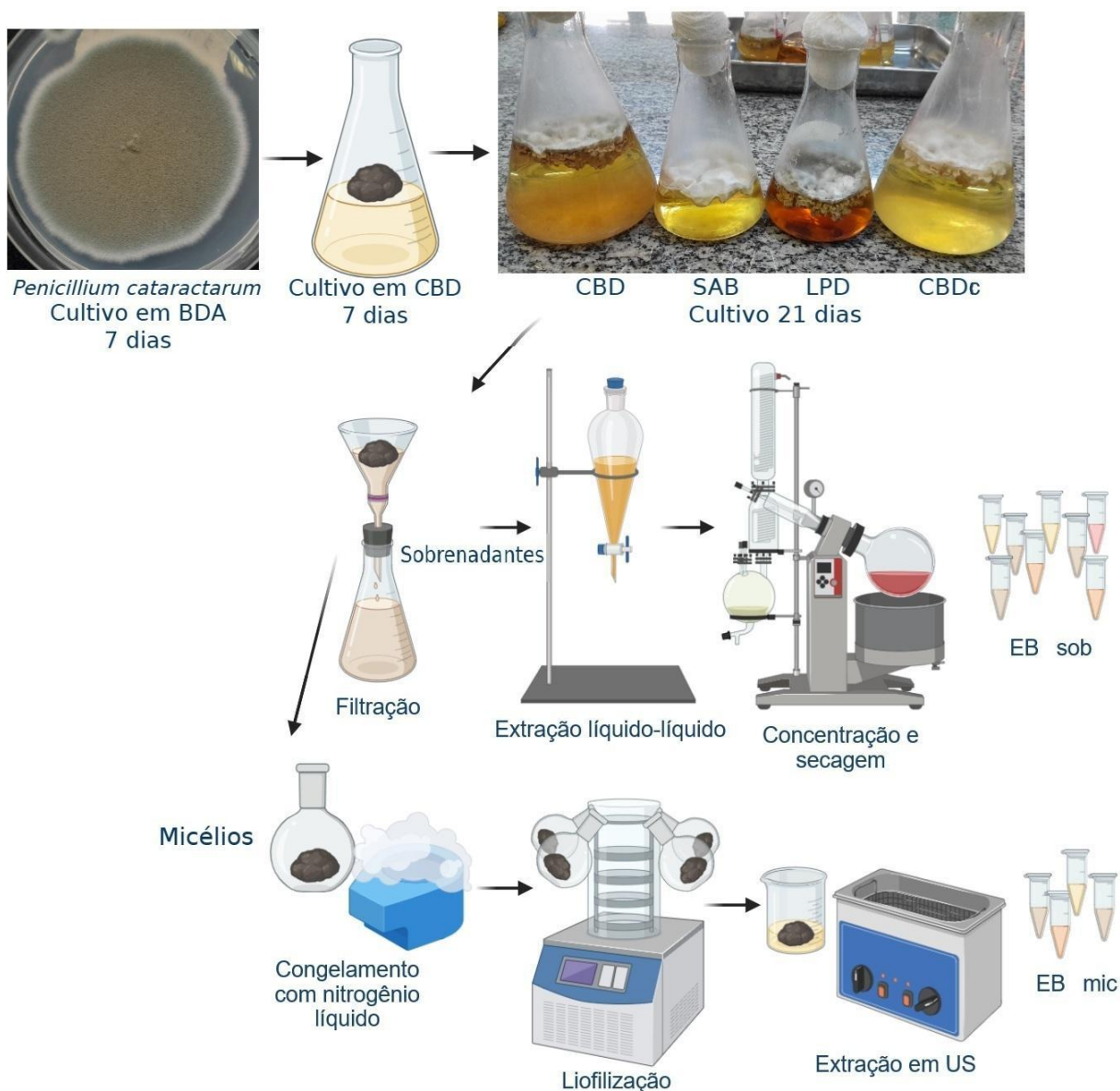
As biomassas miceliais retidas na filtração foram imediatamente transferidas para balões de fundo redondo, com auxílio de espátulas, e levadas ao congelador por 3 dias para posterior congelamento com nitrogênio líquido e liofilização (Christ Alpha 2-4 LD plus). Após a liofilização, as biomassas miceliais secas foram transferidas para tubos cônicos tipo Falcon e pesadas.

Na sequência, os micélios secos foram triturados utilizando-se gral e pistilo, para aumentar a superfície de contato das partículas com o solvente e melhorar o processo extrativo. Em seguida, foram transferidos para béqueres, onde foi adicionado o solvente extrator na proporção de 25 mL para cada 1 g de micélio liofilizado. O solvente extrator utilizado foi acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) 1:1 (v/v) contendo 0,5% de ácido fórmico. Essas amostras foram mantidas em banho ultrassônico (ultrassom - US, Elma E 30 H Elmasonic) por 10 min, sem aquecimento.

Após esse tempo de extração, os micélios extraídos foram filtrados em papel filtro e os solventes de extração, de cada micélio, foram coletados em outros béqueres maiores. O procedimento foi repetido mais 2 vezes e os filtrados foram concentrados em evaporador rotativo, transferidos para microtubos de 2 mL e mantidos no dessecador até a completa secagem para a obtenção dos EBmic.

O esquema na **Figura 16** ilustra todas essas etapas aplicadas à obtenção dos extratos brutos de sobrenadante e biomassa micelial.

Figura 16 - Esquema resumido do cultivo do *Penicillium cataractarum* 5IP2F4 em diferentes meios líquidos e a obtenção dos extratos de sobredadante (EBsob) e de biomassa micelial (EBmic)



Fonte: Elaboração própria utilizando a plataforma [BioRender.com](https://www.biorender.com), 2024

4.6. Análises dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos e espectrômetro de massas (CLAE-DAD-EM)

Os EBsob e EBmic foram analisados em um cromatógrafo de cromatografia líquida ultrarrápida (UFLC) da Shimadzu acoplado a um detector de arranjo de diodos SPD-M20A e a um espectrômetro de massas modelo MicrOTOF-Q III (Bruker Daltonics) com fonte de ionização por eletrospray (ESI) e a analisadores quadrupolo e tempo de voo (Q-TOF). As análises foram realizadas nos modos de ionização positivo e negativo e a coluna cromatográfica utilizada foi uma Kinetex C18 (2,6 µm, 150 x 2,1 mm, Phenomenex) com pré-coluna de mesmo material.

As amostras dos EBsob e EBmic foram preparadas na concentração de 4 mg/mL utilizando os solventes metanol e água ultrapura na proporção 7:3 (v/v) para a solubilização e com o auxílio do banho de US (10 min). As amostras foram filtradas em filtros de seringa de poro 0,22 µm (Millipore Millex PTFE - politetrafluoretileno), acondicionadas em *vials* e injetadas no cromatógrafo através do auto-injetor. As análises cromatográficas foram realizadas com uma vazão de 0,3 mL/min e à temperatura de 50° C na coluna cromatográfica. A fase móvel utilizada foi água ultrapura (A) e acetonitrila (B), ambos contendo 0,1% de ácido fórmico, e o gradiente de eluição foi o seguinte: 0-2 min (97% de A), 2-25 min (97-75% de A), 25-40 min (75-20% de A) e 40-43 min (20% de A).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimentos dos cultivos e dos extratos

Após o cultivo do *P. cataractarum* 5IP2F4 seguindo a estratégia OSMAC, foi possível observar que o fungo se desenvolveu melhor no meio líquido extrato de levedura-peptona-dextrose (LPD), uma vez que os rendimentos dos extratos (**Tabela 1**) obtidos do crescimento do fungo nesse meio foram maiores. O meio LPD destacou-se tanto pelos maiores rendimentos de EBs quanto por apresentar a maior massa micelial liofilizada (14,06 g), indicando que esse meio fornece as condições nutricionais mais favoráveis para o crescimento do fungo.

Tabela 1 - Massas e rendimentos dos extratos brutos de sobrenadante (EBsob) e biomassa micelial (EBmic) do *Penicillium cataractarum* 5IP2F4

Meio de cultura	EBsob		EBmic		
	Massa média dos EBsob (mg)	Rendimento (mg/L)	Massa média dos EBmic (mg)	Rendimento % (m/m)	Rendimento (mg/L)
LPD	46,01	306,73	31,96	0,23	213,07
CBD	54,82	137,05	44,16	0,41	110,40
CBDc	49,45	123,63	37,56	0,29	93,90
SAB	14,69*	97,93*	13,41	0,26	89,40

Fonte: Elaboração própria, 2025

Nota: LPD = extrato de levedura-peptona-dextrose; CBD = caldo batata-dextrose; CBDc = caldo batata-dextrose comercial; SAB = *Sabouraud*; Massas dos micélios liofilizados: LPD = 14,06 g; CBD = 10,66 g; CBDc = 12,94 g; SAB = 5,19 g; *houve uma perda de conteúdo da amostra de EBsob do meio de cultura SAB durante o procedimento de obtenção

O desempenho superior no LPD pode ser atribuído à sua composição complexa e equilibrada, que inclui fontes ricas de nitrogênio (extrato de levedura e peptona) e carboidratos prontamente assimiláveis (dextrose), além de vitaminas e minerais provenientes do extrato de levedura. Essa combinação favorece o crescimento primário, que depende diretamente da disponibilidade de precursores nitrogenados e da energia derivada de açúcares simples (KIRSCH; MACEDO; TEIXEIRA, 2016).

Os meios CBD e CBDc apresentaram rendimentos e biomassas intermediários, compatíveis com sua composição mais simples. Embora forneçam carboidratos abundantes (derivados da batata e da dextrose), apresentam diversidade menor de fontes nitrogenadas, o que pode impactar no crescimento fúngico. Ainda assim, foram capazes de sustentar uma biomassa considerável, indicando que esses meios são adequados para o crescimento da cepa.

Já o meio SAB apresentou o menor rendimento de EBmic (89,40 mg/L) e menor massa micelial liofilizada (5,19 g) dentre os meios cultivados, possivelmente em decorrência da maior concentração de açúcar no meio (40 g/L de dextrose), o que pode ser um fator repressor de massa, refletindo no baixo crescimento da biomassa micelial.

Em síntese, a análise integrada dos rendimentos dos EBs e das massas de biomassa micelial indica que a composição do meio exerce forte influência na fisiologia do fungo e capacidade anabólica.

5.2 Anotação dos compostos presentes nos extratos

Os EBsob e EBmic foram analisados por CLAE-DAD-EM para a anotação dos compostos presentes nas amostras. Os compostos foram anotados com base em seus dados espectrais obtidos de UV, EM e EM/EM, os quais estão sumarizados na **Tabela 2**, em comparação com dados descritos na literatura, enquanto as estruturas químicas dos compostos identificados encontram-se ilustradas na **Figura 17**.

Tabela 2 - Compostos anotados nos extratos de sobrenadante (EBsob) e de biomassa micelial (EBmic) do *Penicillium cataractarum* analisados por CLAE-DAD-EM

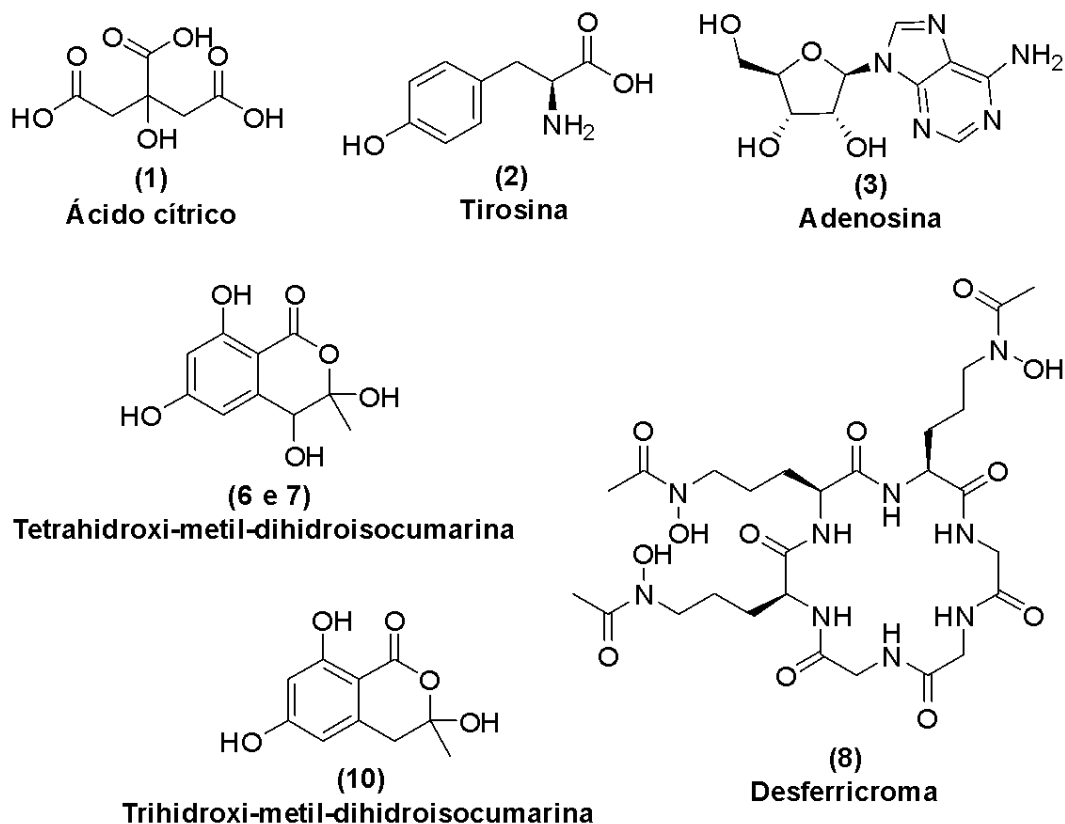
(continuação)

Pico	TR (min)	Composto	UV (nm)	FM	Modo Negativo (m/z)		Modo Positivo (m/z)	CBD mic	CBDc mic	LPD mic	SAB mic	CBD sob	CBDc sob	LPD sob	SAB sob
					EM [M-H] ⁻	EM/EM									
14	34,4	NI	-	C ₁₅ H ₂₀ O ₆	295,1194	277, 249, 231, 205, 163	-	-	-	-	-	-	X	X	X
15	39,8	NI	-	C ₂₈ H ₅₃ NO ₆	-	-	500,3952	-	X	-	X	-	-	-	-

Fonte: LaPNEM, 2025

Nota: TR = tempo de retenção; NI = não identificado; FM = fórmula molecular; m/z = massa/carga; X: presente na amostra; -: ausente na amostra; ¹: EM/EM 165; ²: EM/EM 670, 646, 516, 474, 402, 344, 303, 287, 230, 188; #: [M+H-H₂O]; LPD = extrato de levedura-peptona-dextrose; CBD = caldo batata-dextrose; CBDc = caldo batata-dextrose comercial; SAB = *Sabouraud*; mic = extrato bruto da biomassa micelial obtida do crescimento fúngico; sob = extrato bruto do sobrenadante obtido do crescimento fúngico

Figura 17 - Estruturas de compostos anotados nos extratos do *P. cataractarum*



Fonte: Elaboração própria, 2025

O composto **1** (TR = 1,6 min) não exibiu absorção no espectro de UV e apresentou um íon desprotonado de m/z 191,0195 relativo à fórmula molecular $C_6H_8O_7$ (**Tabela 2**). A partir deste íon, foi observado a perda de uma molécula de água (18 u) em seu espectro de fragmentação. Esse composto foi anotado como ácido cítrico (**1**) (**Figura 17**), um metabólito já descrito a partir de *Penicillium bilaii* e outras cepas desse gênero (FRANZ *et al.*, 1993; CUNNINGHAM; KUIACK, 1992). Além disso, o ácido cítrico é um agente utilizado na indústria alimentícia devido a sua atividade antibacteriana, a qual envolve a penetração e acidificação do citoplasma bacteriano interrompendo os processos metabólicos das bactérias (KSIAZEK, 2024).

O composto **2** (TR = 1,9 min) apresentou em seu espectro de UV uma banda de absorção com absorbância máxima (λ_{max}) de 263 nm, íon protonado de m/z 182,0810 relativo a $C_9H_{11}NO_3$ e íon fragmento m/z 165 $[M+H-NH_3]^+$. Este composto foi anotado como o aminoácido tirosina (**2**), sendo este observado nos extratos de

biomassa micelial (EBmic). Ainda, a D-tirosina já foi reportada como agente inibidor da formação de biofilme por *E. coli*, através do impedimento da adesão bacteriana a superfícies (LI *et al.*, 2023).

O composto **3** (TR = 2,4 min) apresentou espectro de UV similar e íon protonado de m/z 268,1042 compatível com a fórmula molecular $C_{10}H_{13}N_5O_4$, o qual foi anotado como o nucleosídeo adenosina (**3**) (**Figura 17**) e está presente em todos os EBmic. Este composto já foi relatado a partir de espécies do gênero *Penicillium*, incluindo de uma cepa endofítica obtida de *Ginkgo biloba* (YUAN *et al.*, 2014) e foi descrito seu efeito de ativação do metabolismo para potencialização da eliminação de bactérias tolerantes e persistentes no organismo (KITZENBERG *et al.*, 2022).

Os compostos **6**, **7** e **10** (TR = 3,5, 8,8 e 14,5 min respectivamente) revelaram bandas de absorção de λ_{max} de aproximadamente 260 e 300 nm, apresentando espectros de UV similares aos observados para cromóforos de cumarina (ANDERSEN, 1991). As cumarinas possuem grupos hidroxila (OH) nucleofílicos em sua estrutura o que parece favorecer a capacidade de inibição de crescimento bacteriano bem como de formação de biofilme por bactérias, em especial de *S. aureus* (ALEJO-ARMIJO *et al.*, 2025), mas essa interferência é vista tanto em gram-positivas como em gram-negativas (REEN *et al.*, 2018). Além disso, as cumarinas apresentam atividade antibacteriana com efeito bactericida através do alongamento celular, da interrupção da divisão celular e da inibição da expressão de genes que codificam a proteína de divisão bacteriana, incluindo o bloqueio da comunicação/sinalização por QS (ZHU *et al.*, 2023).

Os metabólitos **6** e **7** exibiram íons intensos de m/z 225,0400/225,0409 $[M-H]^-$ compatíveis com a fórmula molecular $C_{10}H_{10}O_6$, enquanto o **10** revelou íon m/z 209,0461 $[M-H]^-$ contendo um oxigênio ($C_{10}H_{10}O_5$) a menos que em **6** e **7**. Esses compostos revelaram fragmentações semelhantes, incluindo a perda de uma molécula de água (18 u) e de CO₂ (44 u). Por exemplo, a partir dos íons m/z 225 (**6**, **7**) foram observados os íons fragmentos de m/z 207 $[M-H-H_2O]^-$ e 181 $[M-H-CO_2]^-$. Assim, esses compostos foram anotados como tetrahidroxi-metil-dihidroisocumarina (trihidromeleina) (**6** e **7**) (**Figura 17**) e trihidroxi-metil-dihidroisocumarina (**10**), os quais mostraram dados compatíveis com os dados espectrais descritos na literatura,

além de já serem descritos para algumas espécies de *Penicillium* (CUI *et al.*, 1996; ANDERSEN, 1991), porém ainda não reportados para *P. cataractarum*.

O composto **8** (TR = 11,2 min) não apresentou absorção no espectro de UV e exibiu fórmula molecular de $C_{27}H_{45}N_9O_{12}$, determinada a partir de seus íons m/z 686,3108 $[M-H]^-$ e 688,3266 $[M+H]^+$. A partir do íon m/z 688, foram observados os íons fragmento de m/z 670, 646, 516, 474, 402, 344, 303, 287, 230 e 188, o qual foi semelhante à fragmentação descrita por Kuo e colaboradores (2020) e foi anotado como o ciclopeptídeo desferricroma (**8**) (**Figura 17**). A estrutura deste peptídeo cíclico é composta por três monômeros de glicina e três resíduos de ornitina modificada contendo grupos hidroxamato (KUO *et al.*, 2020).

A desferriferricromina é um ciclopeptídeo sideróforo amplamente reconhecido por sua capacidade de quelar íons de ferro, desempenhando papel fundamental no transporte e na aquisição desse metal por microrganismos. Assim como outros ciclopeptídeos, sua estrutura em anel confere elevada rigidez, estabilidade e maior permeabilidade de membrana quando comparada aos peptídeos lineares, características que resultam em alta afinidade de ligação e notável estabilidade bioquímica. Esses atributos estruturais fazem dos ciclopeptídeos uma classe molecular de grande interesse farmacêutico, dado seu amplo espectro de atividades biológicas, incluindo propriedades anticancerígenas, antimicrobianas e imunossupressoras, que têm inspirado o desenvolvimento de fármacos clinicamente aprovados e novas estratégias terapêuticas para doenças infecciosas, câncer e distúrbios autoimunes (ZHANG; CHEN, 2022; ZORZI; DEYLE; HEINIS, 2017).

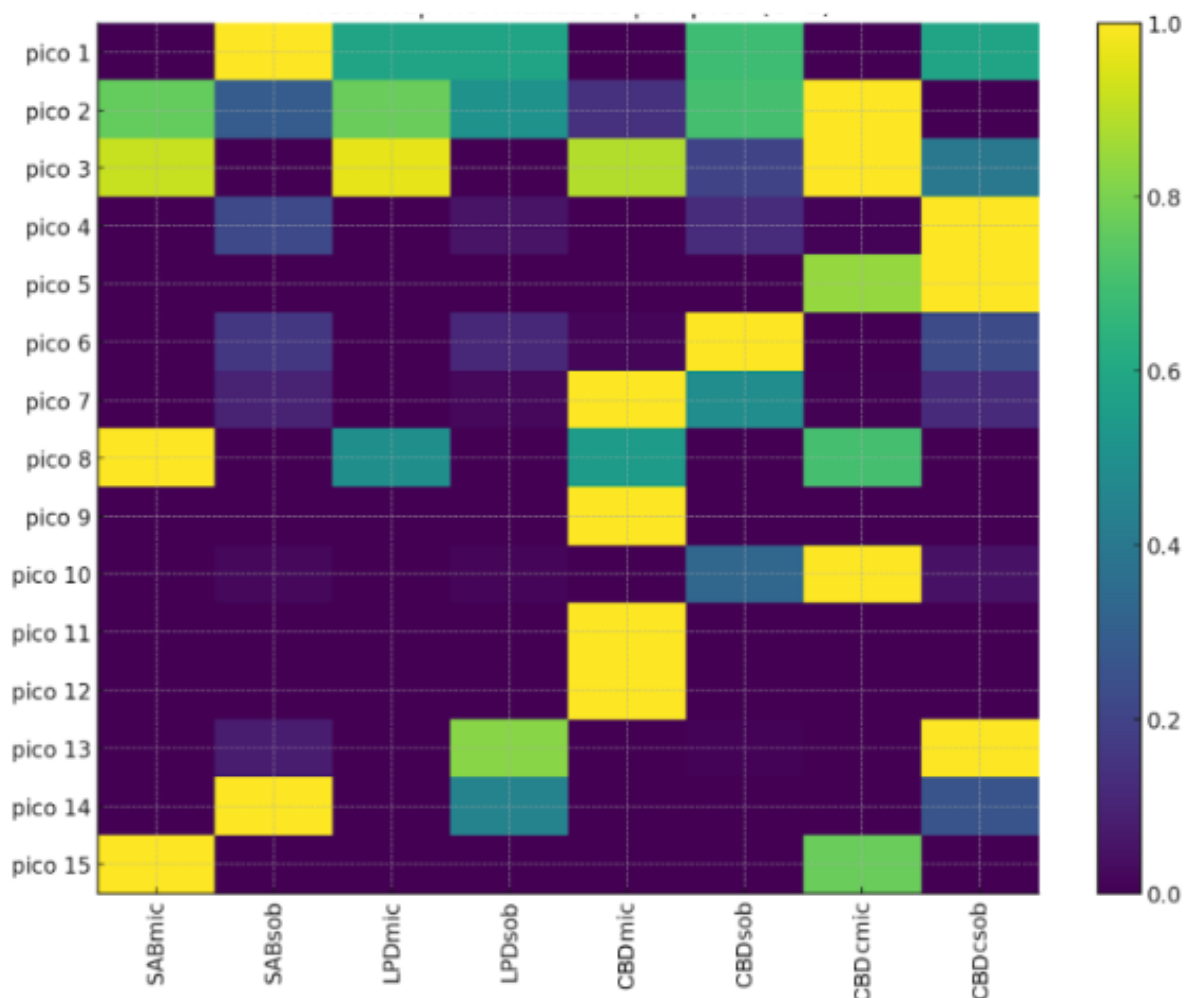
Embora a desferriferricromina seja tradicionalmente estudada por sua função siderófora, ciclopeptídeos estruturalmente relacionados vêm sendo explorados como alvos promissores na oncologia e como arcabouços versáteis para o desenho racional de novas moléculas bioativas (ZHANG, CHEN, 2022; ZORZI; DEYLE; HEINIS, 2017). Os avanços recentes em síntese química, incluindo técnicas de síntese em fase sólida e abordagens de design racional, ampliaram significativamente a diversidade e o potencial farmacêutico dos ciclopeptídeos, permitindo a criação de análogos com maior potência, estabilidade e propriedades farmacocinéticas aprimoradas (ZHANG *et al.*, 2022).

5.3 Comparação dos perfis químicos obtidos na estratégia de OSMAC

A produção de metabólitos secundários por fungos filamentosos, como *P. cataractarum* 5IP2F4, é fortemente modulada pelas condições nutricionais do meio, refletindo tanto o acesso a precursores biossintéticos quanto a ativação de vias metabólicas específicas. A estratégia OSMAC aplicada neste estudo revelou diferenças expressivas no perfil químico dos extratos conforme o meio utilizado, permitindo observar como variações nutricionais direcionam a expressão metabólica da cepa fúngica.

Foi possível identificar variações quali-quantitativas entre as amostras, em especial nos EBsob, evidenciando a influência dos diferentes meios de cultura líquidos na capacidade biossintética do *P. cataractarum* 5IP2F4. Os cromatogramas obtidos reforçam essas diferenças, uma vez que são observados perfis químicos distintos, com picos exclusivos ou mais intensos em determinados meios. Isso é sugestivo de que a composição nutricional modula a biossíntese dos metabólitos, resultando em uma maior variedade de compostos. O mapa de calor da **Figura 18** mostra os picos (à esquerda na vertical) presentes em cada EB dos meios de cultura (horizontal) e suas intensidades para cada composto presente nas amostras de acordo com as áreas dos picos verificadas pela análise por CLAE-DAD-EM.

Figura 18 - Mapa de calor dos compostos anotados por área de pico nos meios líquidos



Fonte: LaPNEM, 2025

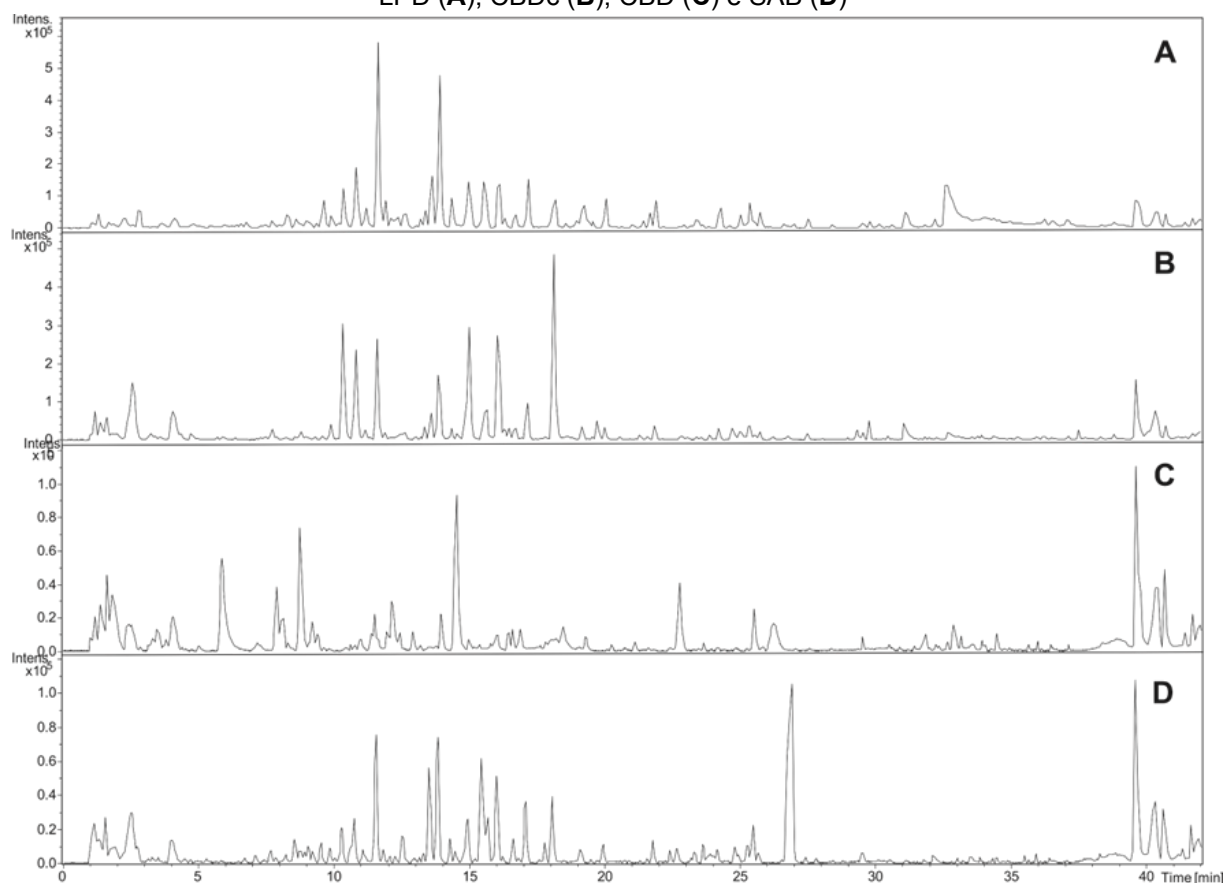
Nota: mic = extrato bruto da biomassa micelial obtida do crescimento fúngico; sob = extrato bruto do sobrenadante obtido do crescimento fúngico; SAB = *Sabouraud*; LPD = extrato de levedura-peptona-dextrose; CBD = caldo batata-dextrose; CBDc = caldo batata-dextrose comercial

É possível observar através das áreas de pico quais meios foram capazes de promover uma maior produção pelo fungo de cada composto identificado. O ácido cítrico (1), os compostos 4 e 5, um dos isômeros da trihidromeleina (6) e os compostos 13 e 14 foram biossintetizados pelo endófito e secretados em maior intensidade nos meios extracelulares (sobrenadantes). Já o nucleosídeo adenosina (3), a trihidromeleina (7), a desferricroma (8), os compostos 9, 11, 12 e 15 foram obtidos em maior intensidade nos extratos das biomassas miceliais. Enquanto a tirosina (2), foi presente em todos os extratos, o composto 5 foi mais intenso no EBmic do meio cultivado CBD (CBDmic), enquanto 9, 11 e 12 foram observados exclusivamente nas amostras do CBDmic, e a cumarina

trihidroxi-metil-dihidroisocumarina (**10**) foi mais intensa no EBsob do meio cultivado CBD (CBDsob).

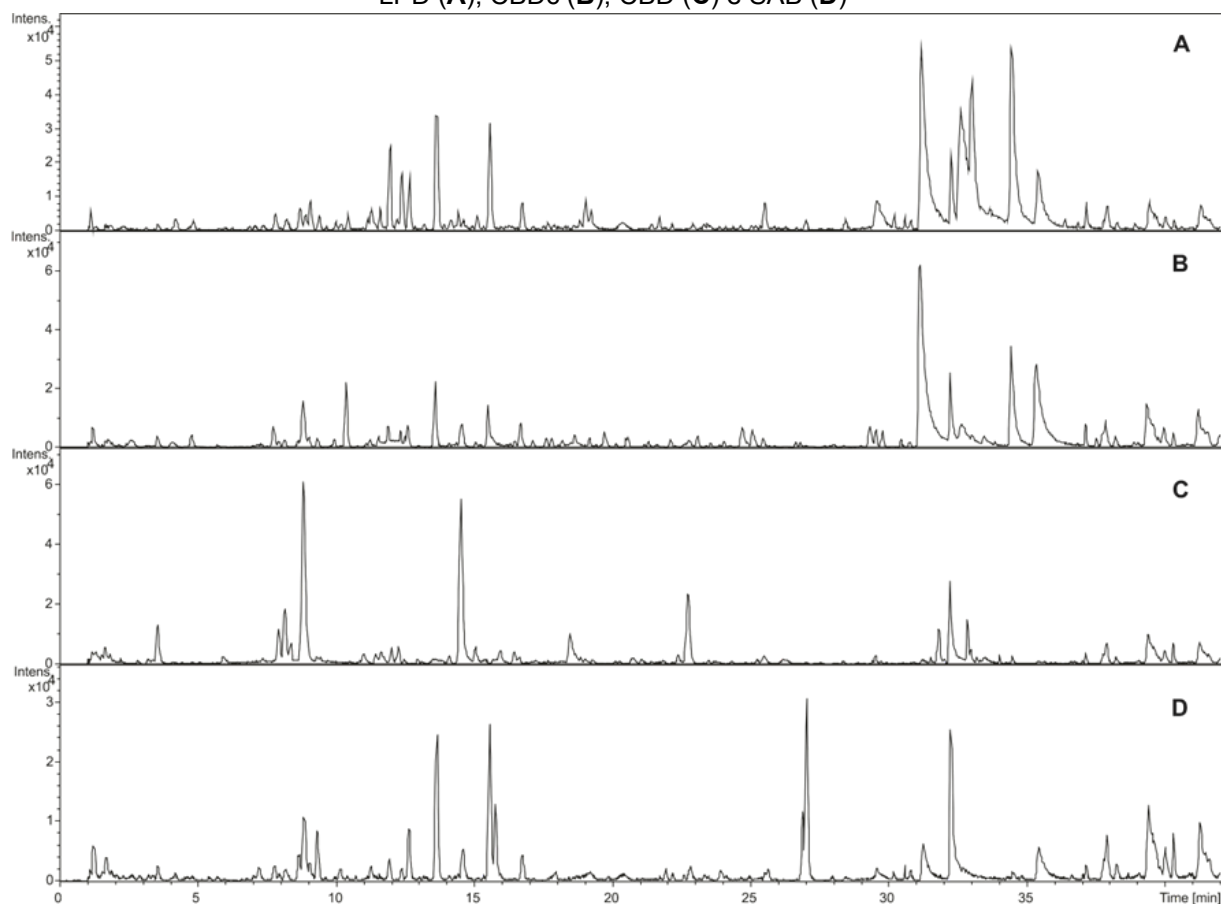
Nos cromatogramas dos EBsob (**Figuras 19-20**) é possível observar uma disparidade no perfil químico do *P. cataractarum* 5IP2F4 nos diferentes meios de cultura, visto que vários compostos obtiveram tempos de retenção distintos na cromatografia. Isso mostra a capacidade metabólica da cepa fúngica de produzir uma gama de compostos através dos nutrientes fornecidos pelos meios.

Figura 19 - Cromatogramas de pico base obtidos em modo de ionização positivo dos extratos de sobrenadante (EBsob) do *Penicillium cataractarum* 5IP2F4 a partir dos cultivos nos meios submersos LPD (**A**), CBDc (**B**), CBD (**C**) e SAB (**D**)



Fonte: LaPNEM, 2025

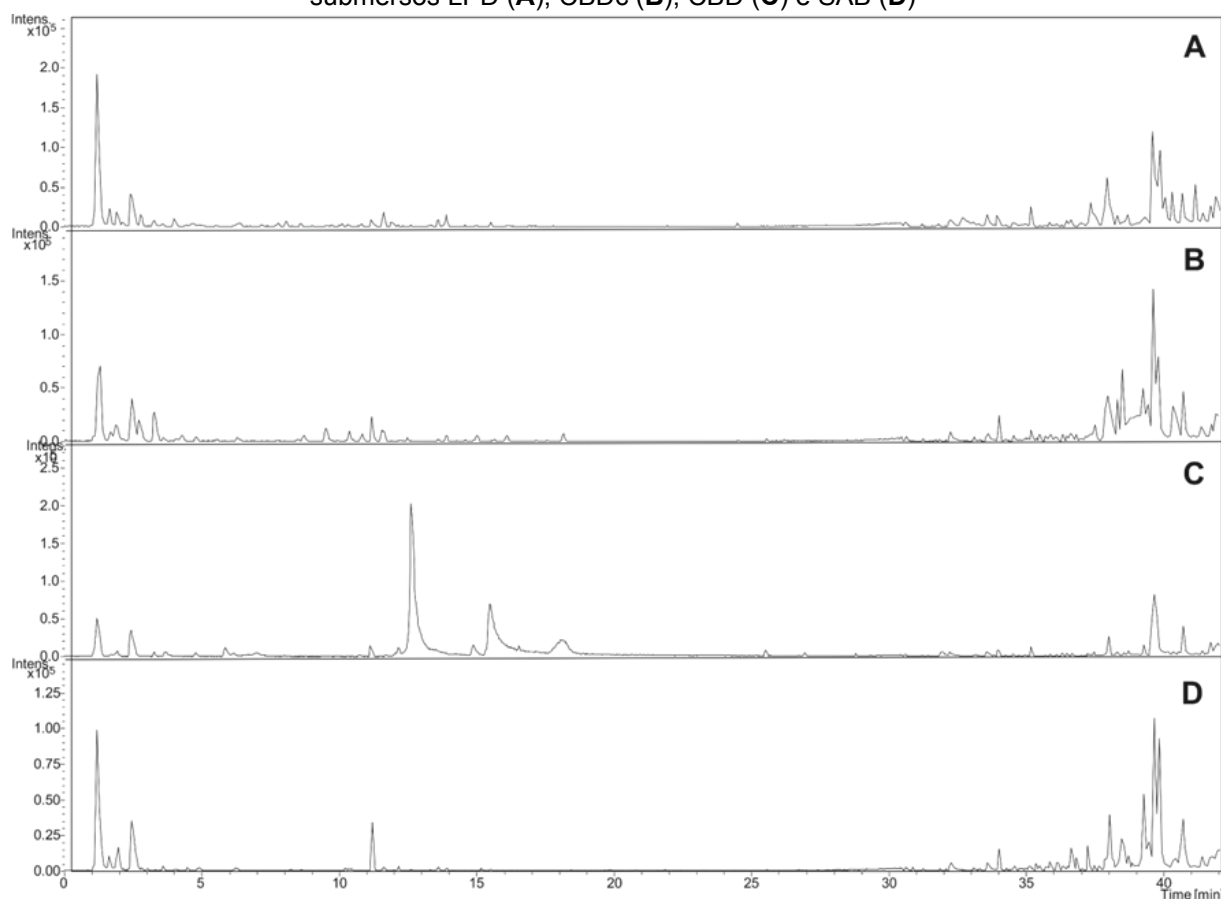
Figura 20 - Cromatogramas de pico base obtidos em modo de ionização negativo dos extratos de sobrenadante (EBsob) do *Penicillium catartarum* 5IP2F4 a partir dos cultivos nos meios submersos LPD (A), CBDc (B), CBD (C) e SAB (D)



Fonte: LaPNEM, 2025

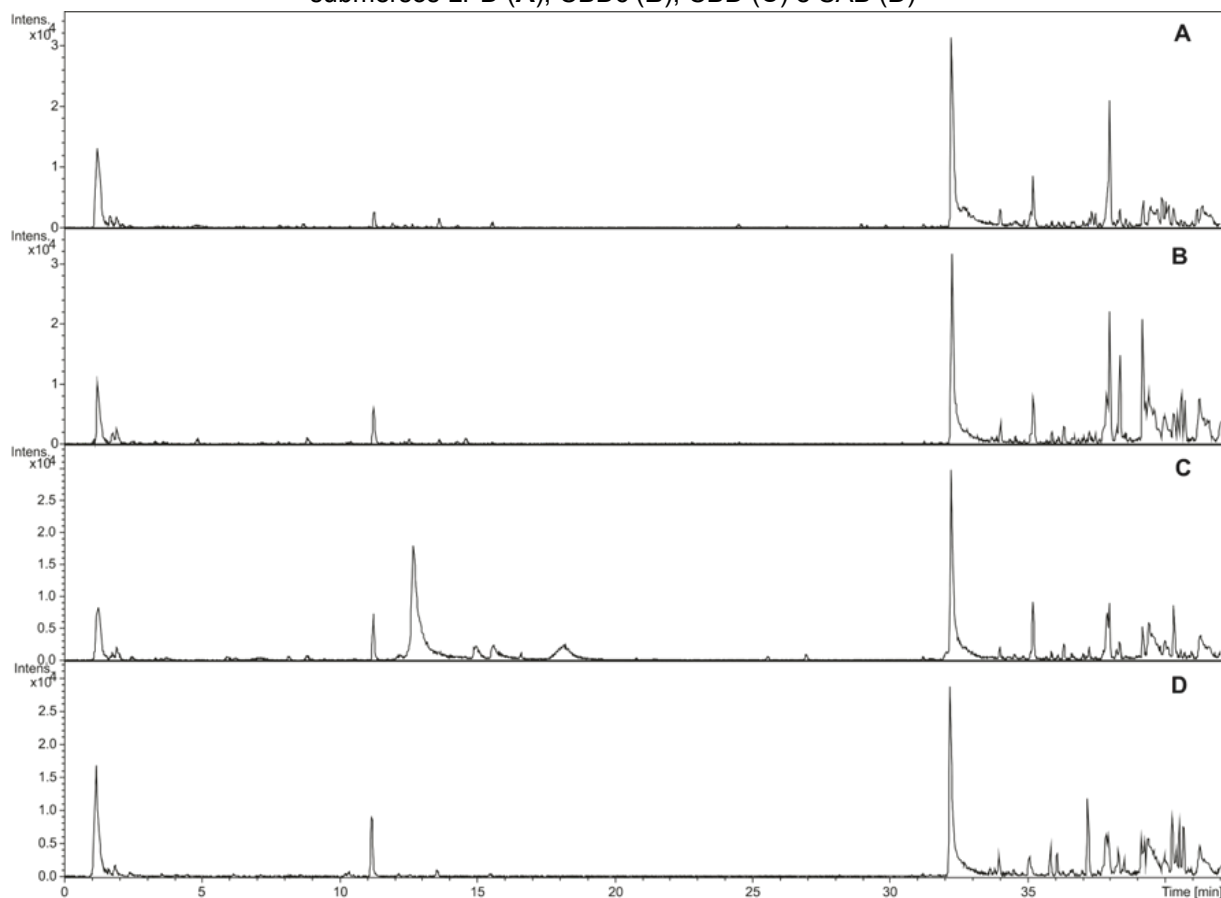
Já os cromatogramas dos micélios (**Figura 21-22**) apresentaram menos picos, o que é sugestivo de que o fungo endofítico consumiu os nutrientes, realizou a biotransformação dos componentes presentes nos meios e os secretou para os sobrenadantes.

Figura 21 - Cromatogramas de pico base obtidos em modo de ionização positivo dos extratos de biomassa micelial (EBmic) do *Penicillium cataractarum* 5IP2F4 a partir dos cultivos nos meios submersos LPD (**A**), CBDc (**B**), CBD (**C**) e SAB (**D**)



Fonte: LaPNEM, 2025

Figura 22 - Cromatogramas de pico base obtidos em modo de ionização negativo dos extratos de biomassa micelial (EBmic) do *Penicillium cataractarum* 5IP2F4 a partir dos cultivos nos meios submersos LPD (A), CBDc (B), CBD (C) e SAB (D)



Fonte: LaPNEM, 2025

6 CONCLUSÃO

Com base no estudo realizado, mediante o cultivo do fungo endofítico *Penicillium cataractarum* 5IP2F4 em meios de cultura submersos, foi possível identificar a produção de variados compostos presentes nos extratos dos sobrenadantes e das biomassas miceliais, utilizando a estratégia OSMAC que permitiu acessar um conjunto químico diversificado, confirmando a eficácia dessa abordagem na indução de diferentes rotas metabólicas.

A cepa 5IP2F4 foi cultivada nos meios caldo batata-dextrose, caldo batata-dextrose comercial, extrato de levedura-peptona-dextrose e *Sabouraud*, e a partir dos nutrientes fornecidos, o endófito foi capaz de produzir uma gama de compostos. A caracterização química dos extratos demonstrou a presença de moléculas relevantes, incluindo as cumarinas trihidroxi-metil-dihidroisocumarina, tetrahidroxi-metil-dihidroisocumarina (trihidromeleina) e o ciclopeptídeo

desferricroma, além de metabólitos primários, compostos que estão sendo relatados pela primeira vez para a espécie *P. cataractarum*. Com isso, o estudo reforça a importância dos fungos endofíticos como fontes promissoras de metabólitos secundários com potencial biotecnológico.

Entre os meios testados, o LPD foi o mais eficiente em promover não só maior crescimento do fungo, apresentando rendimentos superiores tanto de extratos brutos, EBsob e EBmic, quanto de biomassa micelial. No entanto, os perfis químicos dos extratos mostraram uma produção maior de metabólitos nos meios de batata, tanto qualitativa como quantitativamente, mesmo sendo um meio menos nutritivo e não apresentando o maior rendimento. Isso pode ser devido à presença de enzimas amilases na batata, que clivam os carboidratos complexos (amido) e disponibilizam carboidratos de mais fácil absorção, além de determinados minerais e vitaminas. Esse conjunto de dados obtidos demonstra que a fisiologia do *P. cataractarum* 5IP2F4 é fortemente modulada pelo meio de cultivo, influenciando diretamente a biossíntese de metabólitos.

Essa pesquisa contribuiu, também, para a ampliação do conhecimento sobre a diversidade química de um fungo endofítico brasileiro, mais especificamente do Pantanal, revelando a importância dos ecossistemas, bem como destacando a necessidade de preservação da vegetação local e da comunidade de microrganismos que nela habitam.

Além disso, essa espécie de *Penicillium* não havia sido descrita ainda no Brasil, nem seus metabólitos. Com isso, mais análises aprofundadas poderão ser realizadas para a identificação dos demais compostos produzidos pela cepa 5IP2F4. Assim, o trabalho estabelece bases sólidas para estudos futuros, incluindo bioensaios, purificação de compostos, investigações de mecanismos biossintéticos, bem como dosagem de amilase no caldo batata-dextrose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKINSEMOLU, A. A. The role of microorganisms in achieving the sustainable development goals. **J. Clean. Prod.**, v. 182, p. 139-155, 2018. Disponível em: <<https://iums.org/media/foto-articoli/100/varie/Akinsemolu%202018.pdf>> Acesso em: 18, nov. 2025.
- ALEJO-ARMILLO, A. *et al.* Evaluation of Antibacterial and Antibiofilm Properties of Phenolics with Coumarin, Naphthoquinone and Pyranone Moieties Against Foodborne Microorganisms. **Molecules**, v. 30, n. 4, *article number* 944, 2025. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/30/4/944>> Acesso em: 3, dec. 2025.
- ANDERSEN, B. Consistent production of phenolic compounds by *Penicillium brevicompactum* for chemotaxonomic characterization. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 60, n. 2, p. 115–123, 1991. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00572701#citeas>> Acesso em: 27, nov. 2025.
- ASSAD, B. M. *et al.* Endophytic actinobacteria of *Hymenachne amplexicaulis* from the Brazilian Pantanal wetland produce compounds with antibacterial and antitumor activities. **Microbiol. Res.**, v. 248, n. 4, *article number* 126768, 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501321000744?via%3Dihub>> Acesso em: 18, nov. 2025.
- ATANASOV, A. G. *et al.* Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 20, n. 3, p. 200-216, 2021. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7841765/>> Acesso em: 18, nov. 2025.
- ATTIA, E. Z. *et al.* Discovering the chemical profile, antimicrobial and antibiofilm potentials of the endophytic fungus *Penicillium chrysogenum* isolated from *Artemisia judaica* L. assisted with docking studies. **S. Afr. J. Bot.**, v. 151, parte B, p. 218-227, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629922000072>> Acesso em: 18, nov. 2025.
- BARTLETT, A. *et al.* A comprehensive list of bacterial pathogens infecting humans. **Microbiology**, v. 168, n. 12, *article number* 1269, 2022. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.001269>> Acesso em: 18, nov. 2025.
- BORKUNOV, G. V. *et al.* New piperazine derivatives helvamides B–C from the marine-derived fungus *Penicillium velutinum* ZK-14 uncovered by OSMAC (One Strain Many Compounds) strategy. **Nat. Prod. Bioprospect.**, v. 14, *article number* 32, 2024. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13659-024-00449-9>> Acesso em: 18, nov. 2025.
- CATEGORY: GAMMA PROTEOBACTERIA. **Wikimedia Commons**, 2024. Disponível em:

<https://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Gamma_Proteobacteria> Acesso em: 18, nov. 2025.

CHIBA, K. Discovery of fingolimod based on the chemical modification of a natural product from the fungus, *Isaria sinclairii*. **J. Antibiot.**, v. 73, n. 10, p. 666-678, 2020. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41429-020-0351-0>> Acesso em: 18, nov. 2025.

CONRADO, R. *et al.* Overview of Bioactive Fungal Secondary Metabolites: Cytotoxic and Antimicrobial Compounds. **Antibiotics**, v. 11, n. 11, *article number* 1604, 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-6382/11/11/1604>> Acesso em: 18, nov. 2025.

CUI, C. B. *et al.* Acetophthalidin, a Novel Inhibitor of Mammalian Cell Cycle, Produced by a Fungus Isolated from a Sea Sediment. **J. Antibiot.**, v. 49, n. 2, p. 216-219, 1996. Disponível em: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/antibiotics1968/49/2/49_2_216/_article> Acesso em: 27, nov. 2025.

CUNNINGHAM, J. E.; KUIACK, C. Production of Citric and Oxalic Acids and Solubilization of Calcium Phosphate by *Penicillium bilaii*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 58, n. 5, p. 1451-1458, 1992. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC195625/>> Acesso em: 27, nov. 2025.

DAI, J. *et al.* Recent progress of antibacterial natural products: future antibiotics candidates. **Bioorg. Chem.**, v. 101, *article number* 103922, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045206820307872?via%3Dihub>> Acesso em: 18, nov. 2025.

DANQUAH, C. A. *et al.* Antimicrobial Compounds from Microorganisms. **Antibiotics**, v. 11, n. 3, *article number* 285, 2022. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8944786/>> Acesso em: 18, nov. 2025.

DERNTL, C. *et al.* In Vivo Study of the Sorbicillinoid Gene Cluster in *Trichoderma reesei*. **Front. Microbiol.**, v. 8, *article number* 2037, 2017. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5654950/>> Acesso em: 24, nov. 2025.

FRANZ, A. *et al.* Influence of medium components and metabolic inhibitors on citric acid production by *Penicillium simplicissimum*. **J. Gen. Microbiol.**, v. 139, n. 9, p. 2101-2107, 1993. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-139-9-2101>> Acesso em: 27, nov. 2025.

FREDIANSYAH, A. *et al.* Microbial Natural Products with Antiviral Activities, Including Anti-SARS-CoV-2: A Review. **Molecules**, v. 27, n. 13, *article number* 4305, 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/27/13/4305>> Acesso em: 18, nov. 2025.

HIFNAWY, M. S. *et al.* The genus *Micromonospora* as a model microorganism for bioactive natural product discovery. **RSC Advances**, v. 10, n. 35, p. 20939-20959,

2020. Disponível em:

<<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2020/ra/d0ra04025h>> Acesso em: 18, nov. 2025.

HUTCHINGS, M. I.; TRUMAN, A. W.; WILKINSON, B. Antibiotics: past, present and future. **Curr. Opin. Microbiol.**, v. 51, p. 72-80, 2019. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527419300190>> Acesso em: 18, nov. 2025.

HYDE, K. D. *et al.* The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. **Fungal Diversity**, v. 97, p. 1-136, 2019. Disponível em:

<<https://link.springer.com/article/10.1007/s13225-019-00430-9>> Acesso em: 18, nov. 2025.

KSIAZEK, E. Citric Acid: Properties, Microbial Production, and Applications in Industries. **Molecules**, v. 29, n. 1, *article number* 22, 2024. Disponível em:

<<https://www.mdpi.com/1420-3049/29/1/22>> Acesso em: 3, dec. 2025.

KHAN, R. A. Natural products chemistry: The emerging trends and prospective goals. **Saudi Pharm. J.**, v. 26, n. 5, p. 739-753, 2018. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/313163260_Natural_Products_Chemistry_The_Emerging_Trends_and_Prospective_Goals> Acesso em: 18, nov. 2025.

KIRSCH, L. S.; MACEDO, A. J. P.; TEIXEIRA, M. F. S. Production of mycelial biomass by the Amazonian edible mushroom *Pleurotus albidus*. **Braz. J. Microbiol.**, v. 47, n. 3, p. 658-64, 2016. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1517838216302702>> Acesso em: 27, nov. 2025.

KITZENBERG, D. A. *et al.* Adenosine Awakens Metabolism to Enhance Growth-Independent Killing of Tolerant and Persister Bacteria across Multiple Classes of Antibiotics. **mBio**, v. 13, n. 3, *article number* 48022, 2022. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9239199/>> Acesso em: 3, dec. 2025.

KUO, T-H. *et al.* Nematode-Trapping Fungi Produce Diverse Metabolites during Predator–Prey Interaction. **Metabolites**, v. 10, n. 3, *article number* 117, 2020.

Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2218-1989/10/3/117>> Acesso em: 27, nov. 2025.

LI, H. *et al.* Chirality of tyrosine controls biofilm formation via the regulation of bacterial adhesion. **Biochem. Eng. J.**, v. 192, *article number* 108844, 2023.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369703X23000396>> Acesso em: 3, dec. 2025.

MILLER, W. R.; ARIAS, C. A. ESKAPE pathogens: antimicrobial resistance, epidemiology, clinical impact and therapeutics. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 22, n. 10, p. 598-616, 2024. Disponível em:

<<https://www.nature.com/articles/s41579-024-01054-w>> Acesso em: 18, nov. 2025.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). *Penicillium catenulatum* (taxonomy). **PubChem**, 2025. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy/2100454>> Acesso em: 18, nov. 2025.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **J. Nat. Prod.**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020a. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>> Acesso em: 18, nov. 2024.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Plant Endophytes and Epiphytes: burgeoning sources of known and “unknown” cytotoxic and antibiotic agents. **Planta Medica**, v. 86, n. 13/14, p. 891-905, 2020b. Disponível em: <<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/a-1095-1111.pdf>> Acesso em: 18, nov. 2024.

NORILER, S. A. *et al.* Bioprospecting and Structure of Fungal Endophyte Communities Found in the Brazilian Biomes, Pantanal, and Cerrado. **Front. Microbiol.**, v. 9, *article number* 1526, 2018. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.01526/full>> Acesso em: 18, nov. 2025.

OLIVEIRA, V. M. *et al.* Microorganisms: the secret agents of the biosphere, and their key roles in biotechnology. **Biota Neotropica**, v. 22, n. spe, *article number* 1343, 2022. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bn/a/4xFKZQSFPrqFgTb7c6qCgcd/?lang=en>> Acesso em: 18, nov. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). OMS: Relatório alerta para aumento de resistência a antibióticos em infecções bacterianas. **ONU News**, 2022. Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2022/12/1806582>> Acesso em: 25, jun. 2024.

REEN, F. J. *et al.* Coumarin: a novel player in microbial quorum sensing and biofilm formation inhibition. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 102, n. 5, p. 2063-2073, 2018. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5814477/>> Acesso em: 3, dec. 2025.

RIBEIRO, B. A. *et al.* Chemical Diversity of Secondary Metabolites Produced by Brazilian Endophytic Fungi. **Current Microbiology**, v. 78, n. 1, p. 33-54, 2021. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/344905818_Chemical_Diversity_of_Secondary_Metabolites_Produced_by_Brazilian_Endophytic_Fungi> Acesso em: 18, nov. 2025.

SADOWSKA, A. *et al.* Statins - From Fungi to Pharmacy. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 25, n. 1, *article number* 466, 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/25/1/466>> Acesso em: 18, nov. 2025.

SALO, O. *et al.* Identification of a Polyketide Synthase Involved in Sorbicillin Biosynthesis by *Penicillium chrysogenum*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 82, n. 13, p. 3971-3978, 2016. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4907180/>> Acesso em: 24, nov. 2025.

SANCHES, L. B. Integração de metabolômica, redes moleculares e co-cultura para a produção de metabólitos secundários em fungos endofíticos: potenciais aplicações contra fitopatógenos e bactérias patogênicas. **Universidade Federal de Mato Grosso do Sul**, 2024. Disponível em:

<<https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/9469>> Acesso em: 27, nov. 2025.

SIABA, S.; CASAL, B.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, I. The Economics of Antibiotic Resistance: A Systematic Review and Meta-analysis Based on Global Research.

Appl. Health Econ. Health Policy, 2025. PMID: 40884690. Disponível em:

<<https://link.springer.com/article/10.1007/s40258-025-01001-7>> Acesso em: 18, nov. 2025.

SILVA, D. B. *et al.* Bioma Pantanal: da complexidade do ecossistema à conservação, restauração e bioeconomia. **Cienc. Cult.**, v. 75, n. 4, *article number* 47, 2023a.

Disponível em:

<http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252023000400003> Acesso em: 18, nov. 2025.

SILVA, F. M. R. **Prospecção de Produtos Naturais de Fungos Endofíticos de**

***Bromelia balansae* Mez.** Orientadora: Denise Brentan da Silva. 2023. Tese

(Doutorado em Biotecnologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2023b. Disponível em:

<https://repositorio.ufms.br/retrieve/bebee3fc-e3d8-4842-bcbe-0b0b92bb935e/TESE_FernandaMottaRibeirodaSilva.pdf> Acesso em: 18, nov. 2025.

SILVA, F. M. R. *et al.* Metabolomic Strategies to Improve Chemical Information from OSMAC Studies of Endophytic Fungi. **Metabolites**, v. 13, n. 2, *article number* 236,

2023c. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2218-1989/13/2/236>> Acesso em: 18, nov. 2025.

SIMPSON, S. *et al.* The influence of biofertilizer effect on switchgrass (*Panicum virgatum*) crop yield under greenhouse and field conditions in Guelph, Ontario, Canada. **AJAR**, v. 5, *article number* 100, 2020. Disponível em:

<<https://onforagenetwork.ca/wp-content/uploads/2024/03/Final-Published-Paper-Sean-AJAR-2020-06-2205-1>> Acesso em: 6, dec. 2025.

SUKMARINI, L.; ATIKANA, A.; HERTIANI, T. Antibiofilm activity of marine microbial natural products: potential peptide- and polyketide-derived molecules from marine microbes toward targeting biofilm-forming pathogens. **J. Nat. Med.**, v. 78, n. 1, p. 1-20, 2023. Disponível em:

<<https://link.springer.com/article/10.1007/s11418-023-01754-2>> Acesso em: 18, nov. 2025.

VISAGIE, C. M. *et al.* Fifteen new species of *Penicillium*. **Persoonia**, v. 36, n. 1, p. 247-280, 2016. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/302590414_Fifteen_new_species_of_Penicillium> Acesso em: 18, nov. 2025.

YUAN, Y. *et al.* Bioactive metabolites isolated from *Penicillium* sp. YY-20, the endophytic fungus from *Ginkgo biloba*. **Nat. Prod. Res.**, v. 28, n. 4, p. 278-81, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24144081/>> Acesso em: 27, nov. 2025.

ZHANG, H.; CHEN, S. Cyclic peptide drugs approved in the last two decades (2001–2021). **RSC Chem. Biol.**, v. 3, p. 18-31, 2022. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2022/cb/d1cb00154j>> Acesso em: 27, nov. 2025.

ZHANG, H. *et al.* Novel Isoindolinone-Based Analogs of the Natural Cyclic Peptide Fenestin A: Synthesis and Antitumor Activity. **ACS Med. Chem. Lett.**, v. 13, p. 1118-1124, 2022. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9290000/>> Acesso em: 27, nov. 2025.

ZHENG, R. *et al.* Biological Activities of Some New Secondary Metabolites Isolated from Endophytic Fungi: A Review Study. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 22, n. 2, *article number* 959, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/2/959>> Acesso em: 18, nov. 2025.

ZHU, F-D. *et al.* Antibacterial activities of coumarin-3-carboxylic acid against *Acidovorax citrulli*. **Front. Microbiol.**, v. 14, *article number* 1207125. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10547900/>> Acesso em: 3, dec. 2025.

ZORZI, A.; DEYLE, K.; HEINIS, C. Cyclic peptide therapeutics: past, present and future. **Curr. Opin. Microbiol.**, v. 38, p. 24-29, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1367593116302010?via%3Dihub>> Acesso em: 27, nov. 2025.

ANEXO A - Laudo de identificação molecular



INFORMAÇÕES DA AMOSTRA

- Identificação: **5IPZF4**
- Tipo de amostra: **fungo isolado em placa de cultivo**
- N° GoGenetic: **Go020489 – S2187**
- Data de recebimento da amostra: **14/02/2024**

INFORMAÇÕES DO SOLICITANTE

- Cliente: **Denise Brentan da Silva**
- Solicitante: **Denise Brentan da Silva**
- Contato: **denise.brentan@ufms.br**

INFORMAÇÕES DO ENSAIO

- Método: Identificação de microrganismos por sequenciamento de DNA (ITS+TEF)
- Referência: GG-BM029, Confiança: 99%;
- Data de início: **16/02/2024**
- Data de conclusão: **26/02/2024**

RESULTADO

O isolado "5IPZF4" apresenta 99% (557/559 bases de ITS, 598/608 bases de TEF) de identidade com *Penicillium catarractarum*



Reino: **Fungi**
 Filo: **Ascomycota**
 Classe: **Eurotiomycetes**
 Ordem: **Eurotiales**
 Família: **Aspergillaceae**
 Gênero: ***Penicillium***
 Espécie: ***Penicillium catarractarum***

Árvore de distância filogenética entre a sequência de DNA do isolado (em amarelo) e sequências similares do banco de dados nr do NCBI.

As informações e resultados se aplicam somente à amostra conforme recebida.

Eduardo Balsanelli, PhD
 CRBio 83112/07-D

Eduardo Balsanelli
 Responsável Técnico - CRBio 83112/07-D
 contato@gogenetic.com.br



Rua Imaculada Conceição, 1430, Curitiba, PR – Brasil – CEP 80215-182
 +55 41 3024.0660 www.gogenetic.com.br