



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO ACADÊMICO EM  
QUÍMICA**

**KEILLA FERREIRA DA SILVA**

**ESTUDO DO PERFIL QUÍMICO E BIOATIVIDADE DE FRAÇÕES DO FUNGO  
ENDOFÍTICO *Neopestalotiopsis* sp. CG13**

**Gurupi, TO 2025**

**Keilla Ferreira da Silva**

**Estudo do perfil químico e bioatividade de frações do fungo endofítico *Neopestalotiopsis*  
sp. CG13**

Defesa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Tocantins (UFT), como requisito à obtenção do grau de Mestre (a) em Química

Orientador (a): Dr<sup>a</sup>. Vanessa Mara Chapla

**Gurupi, TO  
2025**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

- S586e Silva, Keilla ferreira da.  
ESTUDO DO PERFIL QUÍMICO E BIOATIVIDADE DE FRAÇÕES DO FUNGO ENDOFÍTICO *Neopestalotiopsis* sp. CG13. / Keilla ferreira da Silva. – Gurupi, TO, 2025.  
50 f.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Química, 2025.
- Orientadora : Vánessa Mara Chapla
1. Química dos produtos naturais.. 2. Microbiologia.. 3. Micologia.. 4. Metabolômica.. I. Título

CDD 540

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

## RESUMO

Em estudos anteriores, o fungo endofítico *Neopestalotiopsis* sp. CG13, isolado de *Clitoria guianensis* (planta encontrada no Cerrado tocantinense), apresentou capacidade de atuar como agente de biocontrole frente a fungos fitopatogênicos, como *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium* sp. O presente estudo avaliou o perfil químico das subfrações, obtidas do cultivo de *Neopestalotiopsis* sp. CG13 em meio sólido de arroz, utilizando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas e a plataforma online GNPS2, para anotação de compostos e construção de redes moleculares. Com a rede molecular obtida no GNPS2, anotou-se 14 compostos, sendo eles: fenolftaleína, ciclo(tirosil-prolil), acetato de vitamina E, glicerosfocolina, octocrileno, prolifenilalanina, ácido 4-oxododecanodióico, beauvericina, monopalmitina, peróxido de ergosterol, *N*-acetil-L-tirosina, LPC (18:2), denopamina, ciclo(L-isoleucil-L-prolil) e asperfenamato. Além da análise química, avaliou-se a citotoxicidade das subfrações contra células humanas HaCaT (não tumoral) e HCT-116 (tumoral), não houve atividade citotóxica considerável, no entanto a subfração Fr5 apresentou valor de seletividade inicial igual a 1,8, sugerindo a presença de compostos bioativos citotóxicos. Em relação à atividade antibacteriana, não houve inibição considerável das frações em relação as bactérias *Stenotrophomonas maltophilia* e *Escherichia coli*, contudo, a fração Fr5 afetou a formação das colônias de *E. coli*.

**Palavras-chaves:** *Neopestalotiopsis*. GNPS. Redes Moleculares. Citotoxicidade. Antibacteriano.

## ABSTRACT

In previous studies, the endophytic fungus *Neopestalotiopsis* sp. CG13, isolated from *Clitoria guianensis* (a plant found in the Cerrado of Tocantins), showed the ability to act as a biocontrol agent against phytopathogenic fungi, such as *Sclerotinia sclerotiorum* and *Fusarium* sp. The present study evaluated the chemical profile of the subfractions obtained from the cultivation of *Neopestalotiopsis* sp. CG13 on solid medium (rice), using liquid chromatography coupled to mass spectrometry and the online platform GNPS2 for compound annotation and construction of molecular networks. Using the molecular network obtained in GNPS2, 14 compounds were recorded, namely: phenolphthalein, cyclo(tyrosyl-prolyl), vitamin E acetate, glycerophosphocholine, octocrylene, prolifenylalanine, 4-oxododecanedioic acid, beauvericin, monopalmitin, ergosterol peroxide, *N*-acetyl-L-tyrosine, LPC (18:2), denopamine, cyclo(L-isoleucyl-L-prolyl) and asperfenamate. In addition to the chemical analysis, the cytotoxicity of the human subfractions against HaCaT (non-tumor) and HCT-116 (tumor) were evaluated. There was no specific cytotoxic activity, however, the Fr5 subfraction presented an initial selectivity value equal to 1.8, demonstrating some cytotoxicity and the presence of cytotoxic bioactive compounds. Regarding antibacterial activity, there was no considerable inhibition of the fractions in relation to the bacteria *Stenotrophomonas maltophilia* and *Escherichia coli*, however, the Fr5 fraction affected the formation of *E. coli* colonies.

**Keywords:** *Neopestalotiopsis*. GNPS. Molecular Networks. Cytotoxicity. Antibacterial.

## LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 – Gênero <i>Neopestalotiopsis</i> .....	14
Figura 2 – Compostos produzidos por fungos endofíticos .....	18
Figura 3 - <i>Clitoria guianensis</i> .....	21
Figura 4 – Rede molecular das frações de <i>Neopestalotiopsis</i> sp. CGF13*.....	30
Figura 5 – Diagrama de dispersão relacionando nodos obtidos e as frações.....	31
Figura 6 – <i>Cluster</i> com compostos anotados.....	33
Figura 7 – Estruturas químicas dos compostos anotados .....	36
Figura 8 – <i>Clusters</i> com predominância da fração Fr5. ....	39
Figura 9 – Ensaio antibacteriano .....	41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Espécies de fungos endofíticos e respectivas plantas hospedeiras .....	17
Tabela 2 – Frações obtidas do cultivo de <i>Neopestalotiopsis</i> sp. CGF13.....	24
Tabela 3 - Anotação de metabólitos nas frações de <i>Neopestalotiopsis</i> sp. CGF13. ....	32
Tabela 4 – Resultado do ensaio de citotoxicidade das frações de extrato de <i>Neopestalotiopsis</i> sp. CGF13.....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PPGQ	Programa de Pós-Graduação em Química
UFT	Universidade Federal do Tocantins
BDA	Batata, Dextrose e Ágar
LGC/LNBio-CNPEM	Laboratório de Gestão de Compostos/ Laboratório Nacional de Biociências - Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais
CL	Cromatografia Líquida
UPLC	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i> – Cromatografia Líquida de Ultra Performance
MS	<i>Mass Spectrum</i> - Espectrometria de massas
MS/MS	<i>Tandem Mass Spectrometry</i> - Espectrometria de massas em tandem
GNPS2	<i>Global Natural Products Social Molecular Networking 2</i>
AcOEt	Acetato de etila
DMSO	Dimetilsulfóxido
UPLC-MS/MS	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i> – (Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplado à Espectrometria de Massas)
HTS	<i>High-Throughput Screening</i>
HaCaT	Células queratinócitos humanos, não tumoral
HCT-116	Célula epitelial humana, câncer de cólon
EC <sub>50</sub>	concentração do fármaco que induz metade do efeito máximo
ID	Identificação
IS	índice de seletividade inicial
HCA	<i>High-Content Analysis</i>
LDV	<i>Low Dead Volume</i>
CDD	<i>Collaborative Drug Discovery</i>
LPC	Lisofosfatidilcolina

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\mu$	Micro
$\mu\text{L}$	Microlitro
$\mu\text{m}$	Micrômetro
mm	Milímetro
mL	Mililitro
g	Gramma
L	Litro
$\mu\text{g}$	Micrograma
$m/z$	Relação massa/carga

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
2	<b>OBJETIVO .....</b>	<b>12</b>
2.1	<b>Objetivo geral .....</b>	<b>12</b>
2.2	<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>12</b>
3	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>13</b>
3.1	<b>Cerrado.....</b>	<b>13</b>
3.2	<b><i>Clitoria guianensis</i>.....</b>	<b>14</b>
3.3	<b>Fungos.....</b>	<b>16</b>
3.3.1	Fungos endofíticos.....	17
3.3.2	Gênero <i>Neopestalotiopsis</i> .....	18
3.2	<b>Produtos naturais de fungos endofíticos.....</b>	<b>20</b>
3.3	<b><i>Global Natural Products Social Molecular Networking</i>.....</b>	<b>22</b>
4	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>24</b>
4.1	<b>Cultivo e obtenção de extrato bruto e fracionamento.....</b>	<b>24</b>
4.2	<b>Obtenção do perfil químico das frações por técnicas cromatográficas...</b>	<b>25</b>
4.3	<b>Caracterização química das frações com a plataforma GNPS2.....</b>	<b>26</b>
4.4	<b>Ensaio de citotoxicidade.....</b>	<b>27</b>
4.5	<b>Ensaio antibacteriano .....</b>	<b>28</b>
5	<b>RESULTADOS E ANÁLISE.....</b>	<b>29</b>
5.1	<b>Cultivo do fungo endofítico e fracionamento do extrato bruto.....</b>	<b>29</b>
5.2	<b>Análise do perfil químico e anotação de compostos.....</b>	<b>29</b>
5.3	<b>Ensaio de citotoxicidade.....</b>	<b>39</b>
5.4	<b>Ensaio antimicrobiano .....</b>	<b>42</b>
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>44</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos eucarióticos, importantes no ecossistema por apresentar a habilidade de degradação e decomposição da matéria orgânica, além de possuir diversas aplicações em setores de interesse humano, como o farmacêutico, agrícola e alimentício (Hyde et al., 2024; Kirk, 2025; Tortora; Case; Funke, 2016). Em diversos ambientes e atuando de formas variadas, como patógenos, sapróbios e endófitos; sendo que os fungos endofíticos habitam o interior de plantas, durante parte de seu ciclo de vida, e não causam doenças a planta hospedeira. São microrganismos presentes em todas as espécies de plantas relatadas, sugerindo presença de endófitos em diversos tipos de ambientes (Dos Reis; Do Vale; Lorenzi, 2022; Eo; Choi; Eom, 2022).

Entre os fungos endofíticos, os gêneros mais relatados na literatura são *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Piriformospora*, pertencentes ao filo *Ascomycota* (Rana et al., 2019). A produção de compostos naturais por fungos é de interesse humano, pois podem ser empregados na agricultura, medicina, meio ambiente e na produção de alimentos, o que ocasiona impactos positivos em relação a fatores socioeconômicos. Além disso, a relação simbiótica entre o fungo e a planta hospedeira os torna potenciais fontes para síntese de compostos derivados das plantas (Singh et al., 2024; Tiwari; Bae, 2022).

O gênero de fungos *Neopestalotiopsis* pertence ao grupo dos ascomicetos, fungos filamentosos produtores de esporos. Esses ocorrem em diversos ambientes e afetam plantas na forma de fitopatógenos e endófitos. São chamados de fungos pestalotioides, juntamente a *Pestalotiopsis* e *Pseudopestalotiopsis*, como patógenos, causam manchas e podridão nas plantas e frutos (Abdelghani et al., 2021; Maharachchikumbura et al., 2014). O isolamento de *Neopestalotiopsis* sp. CGF13 foi feito por Ferraz *et al.* (2024) que observou a capacidade dos microrganismos de atuar como agente de biocontrole ao inibir o crescimento de fungos fitopatogênicos em um ensaio antagonista.

Por meio de dados fornecidos pelo Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima (2024), sabe-se que o Cerrado é considerado o segundo maior bioma da América Latina, ocupando aproximadamente 22% do território nacional, com predominância no estado do Tocantins. Devido a sua biodiversidade, é considerado a maior savana do mundo, abrigando uma diversidade de fauna e flora, possui mais de 11 mil espécies de plantas nativas, muitas utilizadas para alimentação, medicina popular, e, recuperação de solos. Por causa das atividades humanas exploratórias, o bioma é considerado um dos mais ameaçados, havendo várias espécies animais e vegetais em risco de extinção (Dos Reis; Do Vale; Lorenzi, 2022; Oliveira et al., 2024, 2023).

Entre as espécies encontradas no Cerrado, tem-se a *Clitoria guianensis*, planta do

Brasil, que está presente nos biomas Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal, e é popularmente conhecida como Vergateza. Pertence à família Fabaceae e ao gênero *Clitoria*, apresenta características arbustivas, herbáceas e de trepadeira, podendo ser encontrada em regiões de clima tropical e subtropical. É aplicada na cultura popular como uma planta medicinal, utilizada no preparo de garrafadas, tônico do sistema nervoso e por possuir propriedades diuréticas e purgativas (Neves et al., 2024).

Este projeto de pesquisa tem o objetivo de analisar o perfil químico das subfrações do extrato bruto obtido do fungo endofítico *Neopestalotiopsis* sp. CGF13, isolado de *C. guianensis*, através de técnicas de espectrometria de massas e utilizando a plataforma online GNPS2 para anotação de compostos e construção de redes moleculares. Além disso, avaliar a citotoxicidade das amostras obtidas frente a células tumorais e não tumorais, e, atividade antibacteriana. Apesar da ampla biodiversidade do Cerrado e da reconhecida capacidade dos fungos endofíticos de produzir metabólitos bioativos com potencial biotecnológico, grande parte desses microrganismos permanece pouco estudada. No caso de *Neopestalotiopsis* sp. CGF13, isolado de *Clitoria guianensis*, praticamente não há registros detalhados sobre seu perfil químico, nem sobre suas possíveis atividades biológicas. Essa lacuna científica impede o aproveitamento sustentável de novos metabólitos naturais que poderiam contribuir para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, frente ao aumento alarmante da resistência bacteriana, ou para a descoberta de novos compostos citotóxicos seletivos, diante da crescente necessidade de terapias menos agressivas e mais eficientes contra o câncer. Assim, compreender quais moléculas são produzidas por esse fungo e como elas atuam biologicamente pode oferecer alternativas inovadoras para setores como a medicina e a agricultura, além de valorizar a biodiversidade do Cerrado e reforçar a importância de sua conservação.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a produção metabólica e atividade biológicas do fungo endofítico *Neopestalotiopsis* sp. CG13 isolado de *Clitoria guianensis*, utilizando técnicas de espectrometria de massas e redes moleculares.

### 2.2 Objetivos específicos

- Obter o perfil químico das frações obtidas de *Neopestalotiopsis* sp. CG13 por técnicas cromatográficas e espectrometria de massas;
- Construir redes moleculares dos espectros de massas obtidos das frações e anotar os compostos produzidos pelo fungo através da plataforma GNPS2;
- Avaliar a citotoxicidade das frações frente às células tumorais e não tumorais;
- Avaliar a atividade antibacteriana frente às bactérias *Escherichia coli* e *Stenotrophomonas maltophilia*.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Cerrado

De acordo com o Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima (2025) o Cerrado é considerado o segundo maior bioma brasileiro, ocupando uma área considerável do país, cerca de 23% do território nacional. Incide nos estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo, Bahia, Piauí, Maranhão, Rondônia, Paraná e Distrito Federal, sendo considerado uma das savanas que apresenta maior biodiversidade de fauna e flora do mundo. Dados apontam que é o bioma brasileiro com maior redução da área, por causa de atividades agropecuárias, ainda assim, há poucas áreas de preservação desse bioma, que, além de apresentar importância ecológica, abriga diversos grupos sociais minoritários, como indígenas, quilombolas e ribeirinhos (Oliveira et al., 2024, 2023).

A flora do Cerrado é caracterizada por uma variedade de plantas, entre essas, árvores, arbustos, cactos, orquídeas e outras. O guia de campo da vegetação do Cerrado apresentada pelo Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima (2011) aborda 500 espécies de plantas de ocorrência no bioma, como o pequi, ipê, jatobá, mangaba, barbatimão, pau-paraíba, abiu-do-cerrado e outros. O Cerrado brasileiro enfrenta problemas em relação a sua preservação, a intensificação do desmatamento para produção de grão intensificou a exploração do bioma, causando extinção da biodiversidade, degradação do ecossistema, poluição de rios e outras fontes (Trindade et al., 2022).

A diversidade de espécies de plantas do Cerrado possibilita a descoberta de novos endófitos com potencial para aplicação em setores de interesse. Da planta conhecida como guabiroba-do-campo (*Campomanesia adamantium*) foi possível identificar, por meio de técnicas de biologia molecular, 18 fungos endofíticos pertencentes aos gêneros *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Epicoccum* e *Neofusicoccum* (Coertjens; Mascarenhas; Batistote, 2024; Ricci et al., 2024). O extrato bruto da cepa endofítico de *Trichoderma orientale*, um dos microrganismos isolados de espécies florestais do Cerrado e Caatinga no estado do Piauí, apresentou capacidade de inibição do fitopatógeno *Colletotrichum truncatum* (Morais et al., 2022).

#### 3.2 *Clitoria guianensis*

A *Clitoria guianensis* (figura 1) é uma planta nativa do Brasil, estando presente nos biomas Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal, conhecida pelo nome popular Vergateza. Pertence à família Fabaceae e ao gênero *Clitoria*, apresentando características arbustivas,

herbáceas e de trepadeira, podendo ser encontrada em regiões de clima tropical e subtropical. É aplicada na cultura popular como uma planta medicinal, utilizada no preparo de garrafadas, tônico do sistema nervoso e por possuir propriedades diuréticas e purgativas (Neves et al., 2024).

Figura 1 – *Clitoria guianensis*



Fonte: <https://rubens-plantasdobrasil.blogspot.com>

A avaliação de toxicidade dos extratos brutos de *C. guianensis* contra *Artemia salina* mostrou que as folhas da planta apresentam toxicidade moderada. Os extratos de etanol, hexano e acetato de etila tiveram valores de dose letal 50 de 23,44; 41,16 e 8,53 mg/L, respectivamente. Além disso, o flavonoide kaempferitrina foi identificado no extrato através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa. Os estudos fitoquímicos da *C. guianensis* possibilitaram a identificação de um novo isoflavonoide, pratensein-7-O- $\beta$ -rutinosídeo (Cunha et al., 2020; Sousa et al., 2023).

O Grupo de Pesquisa em Química dos Microrganismos da Universidade Federal do Tocantins realiza pesquisas exclusivas relacionadas aos fungos endofíticos isolados desta planta, havendo cerca de 70 fungos purificados e preservados. São realizadas identificação dos fungos por análises morfológicas e técnicas de biologia molecular, avaliação do potencial dos endófitos como agentes de biocontrole e análise do perfil químico dos extratos obtidos dos microrganismos. Os fungos endofíticos identificados nas pesquisas foram *Neopestalotiopsis* sp. CG13, e dois fungos do gênero *Fusarium*, CGF43 e CGF45. Bessa (2022) constatou que os fungos CG13, CG43 e CG45 possuem atividade antagonista frente ao fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, ademais, as cepas CG1, CG3 e CG4 inibiram o crescimento de *F. oxysporum* em um confronto direto (Ferraz et al., 2024).

### 3.3 Fungos

De acordo com o *Catalogue of Life* (Catálogo da Vida) catalogou-se cerca de 157.497 espécies de fungos até o ano de 2024. Os fungos são organismos eucarióticos, conhecidos por se reproduzirem de forma sexuada e assexuada, tendo um metabolismo heterotrófico e podem ser aeróbicos e anaeróbicos facultativos. Ademais, esses organismos desempenham uma importante função no ecossistema, por serem responsáveis por degradar e decompor material orgânico (Hyde et al., 2024; Kirk, 2025; Tortora; Case; Funke, 2016).

Pertencentes ao Reino *Fungi*, são divididos em 12 Filos com status aprovados, sendo eles: *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Blastocladiomycota*, *Chytridiomycota*, *Entomophthoromycota*, *Entorrhizomycota*, *Glomeromycota*, *Mucoromycota*, *Neocallimastigomycota*, *Sanchytriomycota*, *Zoopagomycota* e *Zygomycota*. A divisão dos Filos é definida, de forma principal, através das estruturas sexuais esporuladas, a maioria das espécies relatadas pertencem ao Filo *Ascomycota* seguido de *Basidiomycota* (Kirk, 2025; Tortora; Case; Funke, 2016).

É comum associar fungos a doenças que afetam plantas e animais, há aproximadamente 200 espécies fúngicas responsáveis por causar micoses em animais. Os fitopatógenos fúngicos, por sua vez, são uma preocupação no setor agrícola, visto que afetam cultivares de importância econômica e impactam a segurança alimentar global (Shamim et al., 2024; Singh et al., 2024). Em contrapartida, diversos organismos fúngicos são utilizados em setores de interesse humano, como farmacológico, alimentício e agrícola.

O uso de leveduras como *Saccharomyces cerevisiae*, para produção de alimentos e bebidas fermentados como pães e cervejas, é uma estratégia milenar utilizada pelos seres humanos. Contudo, o foco no potencial fúngico para obtenção de compostos bioativos revelou-se durante a Segunda Guerra Mundial, quando Alexander Fleming isolou a penicilina de uma espécie do gênero *Penicillium*, uma substância antimicrobiana, capaz de inibir o crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus*. Desde então, a indústria farmacêutica investiga metabólitos fúngicos com potencial para obtenção de medicamentos de interesse, como exemplos tem-se: cefalosporina C, antibacteriano produzido por *Acremonium chrysogenum*; griseofulvina, agente antifúngico isolado de *P. griseofulvum* e outros fungos; e a ciclosporina, imunossupressor obtido de *Tolypocladium inflatum* (Aris et al., 2022; Fayek et al., 2022; Lin; Kück, 2022; Tortora; Case; Funke, 2016).

Visando a redução do uso de agrotóxicos, microrganismos como fungos e bactérias são utilizados no setor agrícola por possuírem potencial de atuação como reguladores de crescimento, melhoramento na produtividade e qualidade da planta, solubilização de fosfato e como agente de biocontrole (Prasad; Zhang, 2022). Determinadas cepas do gênero *Mortierella* são conhecidas como promotores do crescimento de plantas, normalmente encontrados em solos e tecidos vegetais (Ozimek; Hanaka, 2021). A cepa *Coprinopsis urticicola* M2, por sua vez, apresenta potencial para atuar como agente de biocontrole frente a *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, conhecido por causar doença no trigo (Gholami et al., 2019).

A União Internacional para Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais das espécies ameaçadas e a *Global Fungal Red List Initiative* relatam que há uma crescente nas espécies fúngicas que apresentam risco de extinção. Os principais fatores que impactam esses organismos são ações exploratórias humanas, mudanças climáticas, e destruição e degradação de habitats. Ao analisar os impactos positivos que os fungos e os produtos naturais que produzem, considera-se fundamental a preservação e estudos de espécies fúngicas (Mueller et al., 2022).

### 3.3.1 Fungos endofíticos

Fungos endofíticos são conhecidos por habitarem o interior de plantas, durante ao menos um período de seu ciclo de vida, além de não causarem doenças a planta hospedeira. São microrganismos presentes em todas as espécies de plantas relatadas, o que indica a presença de endófitos em diversos tipos de ambientes, como desertos, mangues, florestas tropicais e outros (Dos Reis; Do Vale; Lorenzi, 2022; Eo; Choi; Eom, 2022).

Existe variedade de interações entre o fungo e a planta hospedeira, sendo a interação simbiótica entre os organismos a mais relevante, considerando que o fungo produz diversidade de compostos que auxiliam na sobrevivência e desenvolvimento da planta, e, recebe um habitat com espaço e nutrientes para seu desenvolvimento. Os produtos naturais produzidos pelos endófitos, como alcaloides, terpenoides, flavonoides, lipídios e enzimas, possuem várias atividades biológicas importantes para a planta, e que podem ser de interesse humano, como por exemplo a penicilina, com atividade antibiótica (Dos Reis; Do Vale; Lorenzi, 2022; Eo; Choi; Eom, 2022; Spormann, 2023).

Os fungos endofíticos são relatados, em sua maioria, como pertencentes ao Filo *Ascomycota*, um estudo recente na Coreia informa que 93,2% dos endófitos relatados na

literatura em cerca de 30 anos pertencem a este filo (Eo; Choi; Eom, 2022). Além disso, sabe-se que os gêneros *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium* e *Penicillium* são comuns entre os endófitos. O Brasil possui uma das maiores biodiversidades de flora do mundo, que podem ser encontradas nos biomas Caatinga, Pampa, Cerrado, Mata Atlântica e Floresta Amazônica, essa biodiversidade abriga inúmeras espécies de fungos endofíticos (De Carvalho et al., 2021; Gao et al., 2025). A tabela 1 apresenta espécies de fungos endofíticos e as plantas hospedeiras encontradas no Brasil.

Tabela 1 – Espécies de fungos endofíticos e respectivas plantas hospedeiras

<b>Fungo endofítico</b>	<b>Planta hospedeira</b>	<b>Referência</b>
<i>Trichoderma</i> sp. UFPIT02	<i>Cenostigma macrophyllum</i>	(Morais et al., 2022)
<i>Xylaria allantoidea</i>	<i>Schinus terebinthifolius</i>	(Dos Santos et al., 2021)
<i>Penicillium acrean</i>	<i>Hevea brasiliensis</i>	(Araújo et al., 2024)
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Laguncularia racemosa</i>	(Da Silveira Bastos et al., 2024)
<i>Muyocopron lulasilvae</i>	<i>Miconia mirabilis</i>	(Ferro et al., 2023)

Fonte: Autor, 2025.

Existem diversos fatores que influenciam a ocorrência e distribuição dos fungos em uma planta, como localização geográfica, condições ambientais e taxonomia da planta hospedeira. Além disso, esses fatores influenciam nos produtos naturais produzidos pelos endófitos que auxiliam o hospedeiro no seu desenvolvimento e sobrevivência, por exemplo, na produção de compostos antimicrobianos, antitumorais, antioxidantes, que ajudam na resistência a fatores de estresse bióticos e abióticos (Gao et al., 2025; Rana et al., 2019).

Essa produção vasta de compostos desperta interesse na exploração dos endófitos e de seus produtos naturais, que possuem múltiplas atividades biológicas e podem ser utilizados nas áreas farmacêuticas, agrícolas e industriais. Os metabólitos fúngicos surgem como uma alternativa ao uso de produtos químicos sintéticos, por serem considerados sustentáveis e economicamente viáveis (Grabka et al., 2022; Rana et al., 2019).

### 3.3.2 Gênero *Neopestalotiopsis*

O gênero de fungos *Neopestalotiopsis* (figura 2) pertence ao grupo dos ascomicetos, fungos filamentosos produtores de esporos. Em 2014, após avaliar características

morfológicas e genéticas de cerca de 91 espécies do gênero *Pestalotiopsis*, estabeleceu-se dois novos gêneros, o *Neopestalotiopsis* e *Pseudopestalotiopsis*, inúmeras espécies foram transferidas para os novos gêneros. A diferença morfológica entre os gêneros é atribuída a características conidiais, sendo o *Neopestalotiopsis* o grupo proposto para os versicolores (Maharachchikumbura et al., 2014).

Figura 2 – Gênero *Neopestalotiopsis*



Fonte: Autor, 2025.

A ocorrência do gênero se dá em diversos ambientes e em diferentes tipos de plantas, havendo relatos de espécies de *Neopestalotiopsis* encontradas como fitopatógenos e endofíticos. O fungo *N. aotearoa* foi isolado como endofítico de *Thymus vulgaris* (tomilho), e apresentou capacidade de produção do fitohormônios, ácido indol 3-acético, que auxiliam no crescimento de plantas, havendo possibilidade de ser utilizado como um bioestimulante agrícola (Abdelghani et al., 2021; Maharachchikumbura et al., 2014).

Os fungos pestalotioides são conhecidos por sua patogenicidade em cultivares de interesse, como morango, normalmente, causam manchas e podridão na planta e fruto. Ao analisar plantas na China, que apresentavam os sintomas mencionados, fez-se o isolamento de quatro novas espécies do gênero como possíveis causadores de doença, sendo elas, *N. acericola*, *N. cercidicola* e *N. phoenicis*. *N. clavisporea* é um conhecido fitopatógeno, descrito como responsável por causar mancha foliar em maçãs, e pela doença conhecida como macha foliar de *Neopestalotiopsis* (Darapanit et al., 2021; Shi et al., 2024; Zhang et al., 2024).

Os estudos químicos relacionados a esse gênero de fungo são escassos, havendo maior interesse no desenvolvimento de pesquisas para controlar e inibir o crescimento do fungo, muitas vezes caracterizado como um fitopatógeno. Como por exemplo, o endófito *Neopestalotiopsis* sp. MFLUCC15-1130, isolado de *Cinnamomum loureiroi*, apresentou um perfil químico diverso, com elevada produção de eugenol, miristaldeído, ácido láurico e ácido caprílico, ademais, o extrato bruto obtido dessa cultura apresentou atividade antibacteriana frente a *Bacillus cereus* e *Staphylococcus epidermidis* (Tanapichatsakul et al., 2019).

Da cepa fúngica *Neopestalotiopsis* sp. SKE15 obteve-se um exopolissacarídeo bioativo, que apresenta diversas aplicações medicinais, como atividade antibacteriana, citotoxicidade e atividade antioxidante. No estudo, o exopolissacarídeo obtido apresentou como principais componentes da sua constituição o D-glicose, sorbitol e D-galactose (Fooladi et al., 2019).

O fungo endofítico utilizado nesse trabalho, *Neopestalotiopsis* sp. CGF13, foi isolado da planta medicinal *Clitoria guianensis*, em um ensaio antagonista afetou o crescimento micelial dos fitopatógenos *F. oxysporum*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Além disso, o extrato bruto do fungo apresentou atividade antioxidante e alelopática, ao inibir o crescimento de alface (Ferraz et al., 2024).

### 3.4 Produtos naturais de fungos endofíticos

Os microrganismos endofíticos são fontes de diversos compostos bioativos de importância com diversidade de aplicações, como no âmbito farmacêutico e agrícola. A relação simbiótica entre fungo endofítico e planta hospedeira baseia-se na capacidade dos fungos de auxiliarem no desenvolvimento e sobrevivência da planta através da produção de produtos naturais, como por exemplo, fitohormônios e antibióticos. Existem considerável interesse científico na descoberta, e, isolamento dos compostos produzidos por fungos endofíticos e suas possíveis aplicações, sendo considerados uma fonte vasta e renovável de compostos (Hashem et al., 2023; Manganyi; Ateba, 2020).

Existe uma capacidade de produção de compostos quimicamente diversos entre os fungos endofíticos, tendo como principais classes de metabólitos isolados de endófitos têm-se esteroides, alcaloides, fenóis, isocumarinas, quinonas e terpenoides. Nota-se a diversidade de estudos em relação as atividades biológicas dos compostos isolados desses microrganismos, entre elas, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, citotóxica, inseticida, imunomoduladora e outras (Hesham et al., 2020; Pacheco Fill, 2023).

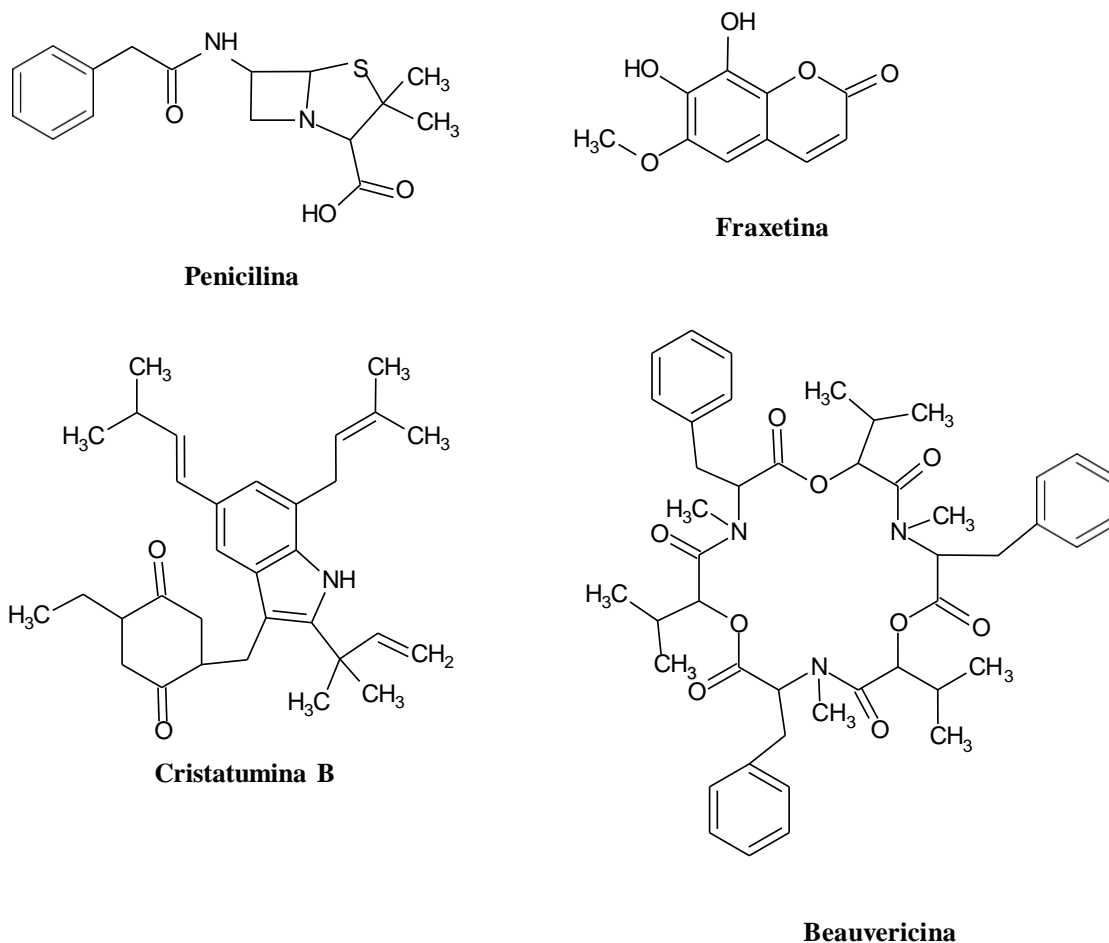
Há diversidade de compostos que apresentam atividades biológicas isolados de fungos endofíticos, do endófito *Pestalotiopsis trachicarpicola* SC-J551, obteve-se quatro novos compostos, denominados pestalotinonas A-D, desses as pestalotinonas A, B e C apresentaram atividade antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* e atividade citotóxica frente a células Vero (Correia et al., 2023; Jiang et al., 2022).

O extrato bruto de *A. fumigatus*, endófito isolado de *Ceriops decandra*, apresentou atividade antibacteriana frente a *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Com a análise do perfil químico do extrato por espectrometria de massas fez-se possível a caracterização de compostos com atividade antimicrobiana, sendo esses, fumigaclavina C, azaspirofurano B e fraxetina (Zihad et al., 2022). O fungo *A. niger* OL519515 isolado de cascas de frutas de *Opuntia ficus-indica* produziu os compostos antibacterianos di-hidroauroglaucina, isotetra-hidroauroglaucina e cristatumina B, que demonstram inibir cepas de bactérias gram-negativas e gram-positivas (Elkady et al., 2022).

A beauvericina é uma micotoxina produzida, comumente, por fungos do gênero *Fusarium*, no entanto, existem diversos gêneros que apresentaram capacidade de produzir o metabólito em questão, como fungos do gênero *Trichoderma*. Esse composto apresenta diversidade de aplicações, podendo ser usado como agente antimicrobiano e agente citotóxico (Urbaniak et al., 2021). A figura 3 apresenta algumas estruturas dos compostos supracitados.

Do fungo endofítico isolados de *Lagopsis supina*, *Aspergillus ochraceus* XZC-1 obteve-se dois compostos com variedade de atividades biológicas, 2-metoxi-6-metil-1,4-benzoquinona e ácido penicílico, com atividade antifúngica frente a fungos do gênero *Fusarium*, atividade antibacteriana contra *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* e *Salmonella entérica*. Além disso, os compostos apresentarem citotoxicidade seletiva em relação a linhagens de células cancerígenas (Zhang et al., 2023).

Figura 3 – Compostos produzidos por fungos endofíticos



Fonte: Autor, 2025.

### 3.5 Global Natural Products Social Molecular Networking

A plataforma online *Global Natural Products Molecular Networking* (GNPS) é descrita em sua *homepage* ([Link](#)) como uma ferramenta gratuita e de acesso livre para análise de dados de espectrometria de massas, e criação de redes moleculares entre moléculas com espectros de massas semelhantes (Aron et al., 2020). A plataforma auxilia na identificação, quantificação e reconhecimento de metabólitos obtidos de fontes biológicas, as funcionalidades descritas são: fluxos de trabalho computacionais para análise de dados de espectrometria de massas, visualizações interativas de dados e resultados de espectrometria de massas, curadoria da base de conhecimento de espectrometria de massas, e integração e visualização de *Big Data* (Wang, 2025).

Ao analisar a diversidade química de dados de espectrometria de massa não direcionado, pode haver dificuldade na identificação de metabólitos através dos dados brutos obtidos em LC-MS/MS (Xu et al., 2021). Por conseguinte, o uso de redes moleculares para análise de um conjunto de dados de espectros de massas possibilita o mapeamento da

diversidade química das amostras analisadas, as redes moleculares são construídas com base no alinhamento espectral, comparando os espectros de fragmentação de íons em relação a  $m/z$  e ao íon precursor (Aron et al., 2020; Schmid et al., 2021).

Seguindo a base de que estruturas químicas semelhantes apresentam padrões de fragmentação parecidos em espectros de massa, as redes moleculares são elaboradas pela plataforma GNPS2 utilizando um algoritmo de cosseno que analisa a similaridade espectral, variando de 0 a 1. Os dados de espectrometria de massa armazenados no GNPS estão presente em um ambiente virtual compartilhado e público, conhecido como MassIVE (Aron et al., 2020; Schmid et al., 2021).

Nas redes moleculares, as moléculas com similaridade espectral são agrupadas e formam *clusters*, que podem ser definidos como famílias moleculares. O fluxo de trabalho seguido para a elaboração das redes começa com o processamento dos espectros de massa (MS/MS) obtidos e fusão dos espectros idênticos em diferentes amostras (isso faz com que os espectros não sejam apresentados mais de uma vez na rede molecular). Após esse processamento, o algoritmo de cosseno pontua a similaridade espectral (quanto mais próximos de 1 os valores de cosseno, mais semelhante o resultado) (Qin et al., 2023; Wang, 2025).

Após esse processamento, o algoritmo de cosseno pontua a similaridade espectral (quanto mais próximos de 1 os valores de cosseno, mais semelhante o resultado), finalizando com a construção das redes moleculares e a conexão dos nodos em *clusters* (espectros gerados). O GNPS apresenta bibliotecas espectrais, essas auxiliam na identificação dos metabólitos com base no mesmo algoritmo de cosseno apresentada para avaliar a similaridade espectral (Qin et al., 2023; Wang, 2025).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Cultivo e obtenção do extrato bruto e fracionamento

O fungo endofítico *Neopestalotiopsis* sp. CGF-13, isolado de *Clitoria guianensis* por FERRAZ *et al.*, (2024), foi cultivado em meio de cultura BDA (200 g de batata, 20 g de dextrose, 20 g de ágar e 1 L de água destilada) por um período de 7 dias, em temperatura ambiente (28 °C).

Para a obtenção do extrato bruto, realizou-se a fermentação em estado sólido, utilizando meio de cultivo de arroz, 180 g de arroz, milho e aveia foram disponibilizados em sacos de polietileno, com 150 mL de água destilada, o material foi autoclavado duas vezes há 120 °C por 40 minutos. Após o período de incubação do fungo em meio BDA, inoculou-se discos miceliais do endófito em 10 sacos contendo o meio de arroz, para a fermentação. O material foi incubado por 20 dias a temperatura ambiente.

Finalizado o período de fermentação, utilizou-se o método de extração sólido-líquido para obtenção do extrato bruto, para tal, a biomassa foi submersa em acetato de etila (AcOEt) por 3 vezes, em intervalos de 12 horas, o solvente foi filtrado e rotaevaporado, para obter redução do volume do solvente. A fase AcOEt foi submetida a partição líquido-líquido com água destilada (2:1) por 3 vezes, com o objetivo de reduzir a concentração de açúcares residuais presentes no meio de cultivo. Após a partição, o solvente foi rotaevaporado para a obtenção do extrato bruto de acetato de etila. Em seguida, solubilizou-se esse extrato em metanol 80%, fazendo uma segunda partição líquido-líquido com hexano (2:1). Os solventes foram rotaevaporando obtendo-se as frações 80% metanol e Hexano.

A Fração metanol 80% (FrMeOH) foi submetido a fracionamento utilizando coluna cromatográfica de C18 como fase estacionária e fase móvel em gradiente, metanol 50% (subfração 1), MeOH 60% (subfração 2), MeOH 80% (subfração 3), MeOH 100% (subfração 4) e Metanol:AcOEt 50:50% (subfração 5), obtendo-se 5 subfrações de 150 mL cada. A tabela 2 indica os códigos de cada fração.

Tabela 2 – Frações obtidas do cultivo de *Neopestalotiopsis* sp. CGF13

Frações/Subfrações	Siglas
Fração metanol 80%	FrMeOH
Metanol 50% (Subfração 1)	Fr1
Metanol 60% (Subfração 2)	Fr2
Metanol 80% (Subfração 3)	Fr3
Metanol 100% (Subfração 4)	Fr4
Metanol: AcOEt 50:50% (Subfração 5)	Fr5

Fonte: Autor, 2025.

#### 4.2 Obtenção do perfil químico das frações por técnicas cromatográficas

As frações (Fr1-Fr-5) foram enviadas para o Laboratório de Gestão de Compostos (LGC/LNBio-CNPEM) para as análises de cromatografia líquida acoplada a um espectrômetro de massas. Com o auxílio do equipamento Janus Varispan ou Janus G3, realizou a solubilização das amostras. As amostras foram centrifugadas a 990 xg por um minuto, em seguida os microtubos foram acondicionados em racks próprias do equipamento, as tampas foram cortadas e reservadas ordeiramente, com o intuito de evitar contaminação cruzada. As racks com os tubos foram acondicionadas em posição especificada no deck do equipamento e foi adicionado volume suficiente de DMSO 100%, obedecendo uma concentração final de 10 mg/mL por amostra. Finalizada a transferência, os tubos foram tampados e levados, um por vez, ao vórtex por 30 segundos, para verificar a presença de precipitado. Em seguida, os tubos foram encaminhados ao banho ultrassônico em potência mínima, e água em temperatura ambiente por 5 minutos. Finalizado esse processo, as amostras foram deixadas em agitação, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz, por 24 horas. Após esse período, seguem para a etapa de transferência para tubos de 1,4 mL codificados (Micronic), para armazenamento, e preparo das placas para análise UPLC- MS/MS (Greiner 784201 – 12 µL). As amostras foram armazenadas em atmosfera de nitrogênio à -20°C até o uso.

Realizou-se o método de cromatografia líquida (CL) para análise do perfil cromatográfico das amostras. Utilizando sistema UPLC Acquity HClass (Waters), equipado com coluna C18 BEH Acquity de 1,7 µm (2,1 x 100 mm, Waters), operando a um fluxo de 0,5 mL/min e uma temperatura de coluna de 40 °C. O gradiente de eluição foi programado da seguinte forma: 90% de água, 5% de acetonitrila (CH<sub>3</sub>CN) e 5% de solução de ácido fórmico

2% (fase móvel inicial); aos 10 minutos, a concentração de CH<sub>3</sub>CN foi aumentada para 95%, mantendo 5% da solução de ácido fórmico a 2% (curva 6); aos 12 minutos, a fase móvel foi alterada para 100% de CH<sub>3</sub>CN (curva 1); e 3 minutos de recalibração na fase móvel inicial (totalizando 15 minutos).

Após a separação cromatográfica, os analitos foram submetidos à análise de espectrometria de massas (MS/MS) utilizando um espectrômetro de massas tandem UHR- ESI-QqTOF Impact II (Bruker), operando no modo positivo. Os parâmetros foram configurados com uma taxa de aquisição de 8 Hz do tipo espectro em linha, com um limite absoluto de 25 contagens. Para a ionização em electrospray, a fonte foi ajustada com os seguintes parâmetros: deslocamento de placa de extremidade de 500 V, voltagem de capilar de 4500 V, pressão de nebulização de 4 Bar para o gás de secagem N<sub>2</sub>, com fluxo de 10 L min<sup>-1</sup> e uma temperatura de secagem de 200 °C.

O método de MS/MS utilizado, empregou um tempo de ciclo de 1 segundo e um limiar absoluto de 1500 contagens. A cela de colisão estava em 5.0 eV com energia de colisão na faixa de 20-70 V e um *cutoff* absoluto de fragmentação de 1000. Íons abaixo de 200 Da foram excluídos e a função “*active exclusion*” estava habilitada. Para calibração do espectrômetro, uma solução de formiato de sódio 10 mM foi utilizada, garantindo uma calibração precisa e confiável do instrumento para análise em alta resolução. Após a análise os dados brutos foram convertidos em mzXML no software do equipamento.

### 4.3 Caracterização química das frações com a plataforma GNPS2

Utilizou-se a plataforma de análise de espectrometria de massas baseadas na web, GNPS2 ([link](#)) para construção das redes moleculares, e, análise química (Yu et al., 2025). Os dados foram filtrados removendo todos os íons de fragmentos MS/MS dentro de +/- 17 Da do precursor *m/z*. Os espectros MS/MS foram filtrados em janela escolhendo apenas os 6 principais íons de fragmentos na janela +/- 50Da em todo o espectro. Definiu-se a tolerância à massa do íon precursor como 0,025 Da e uma tolerância ao íon do fragmento MS/MS de 0,025 Da. Dessa forma, criou-se uma rede onde as bordas foram filtradas para haver uma pontuação de cosseno acima de 0,8 e mais de 6 picos correspondentes. Além disso, manteve-se as arestas entre dois nós na rede se e somente se cada um dos nós aparecesse nos 10 nós mais semelhantes um do outro. Finalmente, o tamanho máximo de uma família molecular foi definido como 100, e as bordas de pontuação mais baixa foram removidas das famílias moleculares até que o tamanho da família molecular estivesse abaixo deste limite.

Os espectros na rede foram então pesquisados nas bibliotecas espectrais do GNPS. Os espectros da biblioteca foram filtrados da mesma maneira que os dados de entrada. Todas as correspondências mantidas entre espectros de rede e espectros de biblioteca deveriam ter uma pontuação acima de 0,65 e pelo menos 6 picos correspondentes. O extrato bruto referente ao meio de cultura foi utilizado como grupo controle, além do espectro de massas do solvente utilizado para a corrida. O software Cytoscape foi utilizado para visualização e análise dos dados obtidos.

Para a anotação dos compostos, utilizou-se os seguintes critérios: os metabólitos relacionados com o espectro referente ao grupo controle foram descartados; comparou-se os espelhos dos espectros de massas, os picos compartilhados entre espectros e a similaridade dos valores dos cossenos, sendo que valores próximos de 1 são ideais; utilizando pesquisa na literatura pode-se determinar se os compostos correspondentes haviam sido relatados como sendo produzidos por microrganismos.

#### 4.4 Ensaio de citotoxicidade

O ensaio de citotoxicidade foi realizado pelo Laboratório de Gestão de Compostos (LGC/LNBio-CNPEM) de maneira automatizada (metodologia de triagem de alto desempenho; HTS – *High-Throughput Screening*), em células aderentes HaCaT (queratinócitos humanos, não tumoral) e HCT-116 (epitelial humana, câncer de cólon), usando o parâmetro de contagem de núcleos em imagens adquiridas por microscopia (metodologia de HCA – *High-Content Analysis*). As amostras armazenadas em placas LDV (9  $\mu\text{L}$ ) foram dispostas em *assay ready plates* (384 poços), por meio de transferência acústica precisa com o uso do manipulador de líquidos ECHO 650 (Beckman Coulter). Este procedimento foi realizado para obter concentrações finais de 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$  - 0,16  $\mu\text{g mL}^{-1}$  no ensaio celular. DMSO (concentração final = 0,4%) foi utilizado como controle negativo, enquanto Paclitaxel foi usado como controle positivo em concentrações finais de 0,5  $\mu\text{M}$  a 0,5 nM. As células foram transferidas para as *assay ready plates* e, após a transferência, a placa foi incubada por 48 horas a 37°C e 5% de dióxido de carbono. A citotoxicidade foi avaliada por contagem de núcleos. Deste modo as células foram coradas com Hoechst (coloração dos núcleos), fixadas com PFA 3,7% e analisadas em um microscópio automatizado Operetta (Perkin Elmer), onde foi possível obter as imagens de interesse. As imagens foram quantificadas no software Harmony (Perkin Elmer) transferidas, processadas e armazenadas no CDD Vault.

#### 4.5 Ensaio antibacteriano

O ensaio antibacteriano utilizou a metodologia de discos difusos adaptado para avaliar o potencial de inibição bacteriano das frações químicas obtidas, testou-se as cepas de duas bactérias *Escherichia coli* e *Stenotrophomonas maltophilia*. Foi feito o cultivo das cepas bacterianas em placas de Petri contendo meio de cultivo Ágar BHI (37g de meio BHI – Brain, Heart Infusion; 15g de Ágar; 1L de água destilada), e incubou-se por um período de 12 horas (overnight) à temperatura ambiente. Passado o período de incubação, de 3 a 4 colônias bacterianas discretas e com morfologias semelhantes foram inoculadas em 10 mL de caldo BHI (37g de BHI; 1 L de água destilada) e, incubadas por 12 horas nas mesmas condições supracitadas. Em seguida, mediu-se a densidade óptica (OD) da suspensão bacteriana utilizando espectrofotômetro a 600nm. A suspensão bacteriana foi ajustada para o padrão de McFarland 0,5, referente a uma absorbância de 0,1 e indicando que a concentração de bactérias é de  $10^8$  UFC/mL (Balouiri; Sadiki; Ibsouda, 2016). Em placas de Petri contendo meio Ágar BHI disponibilizou-se 100 $\mu$ L da suspensão bacteriana padronizada, espalhada por toda a placa com o auxílio de alça de Drigalski. Disponibilizou-se discos de papel filtro (autoclavados) individualmente na superfície do meio de cultura e 10  $\mu$ L de soluções com as frações, solubilizadas em DMSO (nas concentrações de 20 mg/mL), foram dispostos nos discos, seguindo as mesmas concentrações utilizadas no ensaio antifúngico, e tendo como controle positivo DMSO. A leitura do ensaio foi realizada após 12 horas e os halos de inibição medidos com auxílio de um paquímetro.

## 5 RESULTADOS E ANÁLISE

### 5.1 Cultivo do fungo endofítico e fracionamento do extrato bruto

Passado o período de cultivo do fungo em matéria orgânica sólida, o arroz, iniciou-se o processo de extração de compostos presentes na biomassa com acetato de etila, um solvente de média polaridade capaz de extrair metabólitos como aminoácidos, ácidos orgânicos, lipídeos, metabólitos secundários e outros. Com a obtenção do extrato bruto de acetato de etila, fez-se a solubilização do extrato utilizando metanol 80%, com o intuito de retirar possíveis resíduos presentes no meio de cultura, e usou-se hexano para obtenção das duas frações, fração de hexano e fração de metanol 80% (FrMeOH). As massas das frações de hexano e metanol 80% foram, respectivamente, de 0,0887 g e 0,3116 g.

O fracionamento com hexano e metanol 80% é realizado com o intuito de retirar uma parcela dos compostos que formam o meio de cultura, como óleos e contaminantes orgânicos, que são extraídos com hexano. 0,200 g da fração de metanol 80% foi então submetida ao fracionamento com coluna C18 e fase móvel em gradiente, tendo intuito de separar os compostos com diferentes polaridades (Dos Reis et al., 2024; Wang et al., 2023).

### 5.2 Análise do perfil químico e anotação de compostos

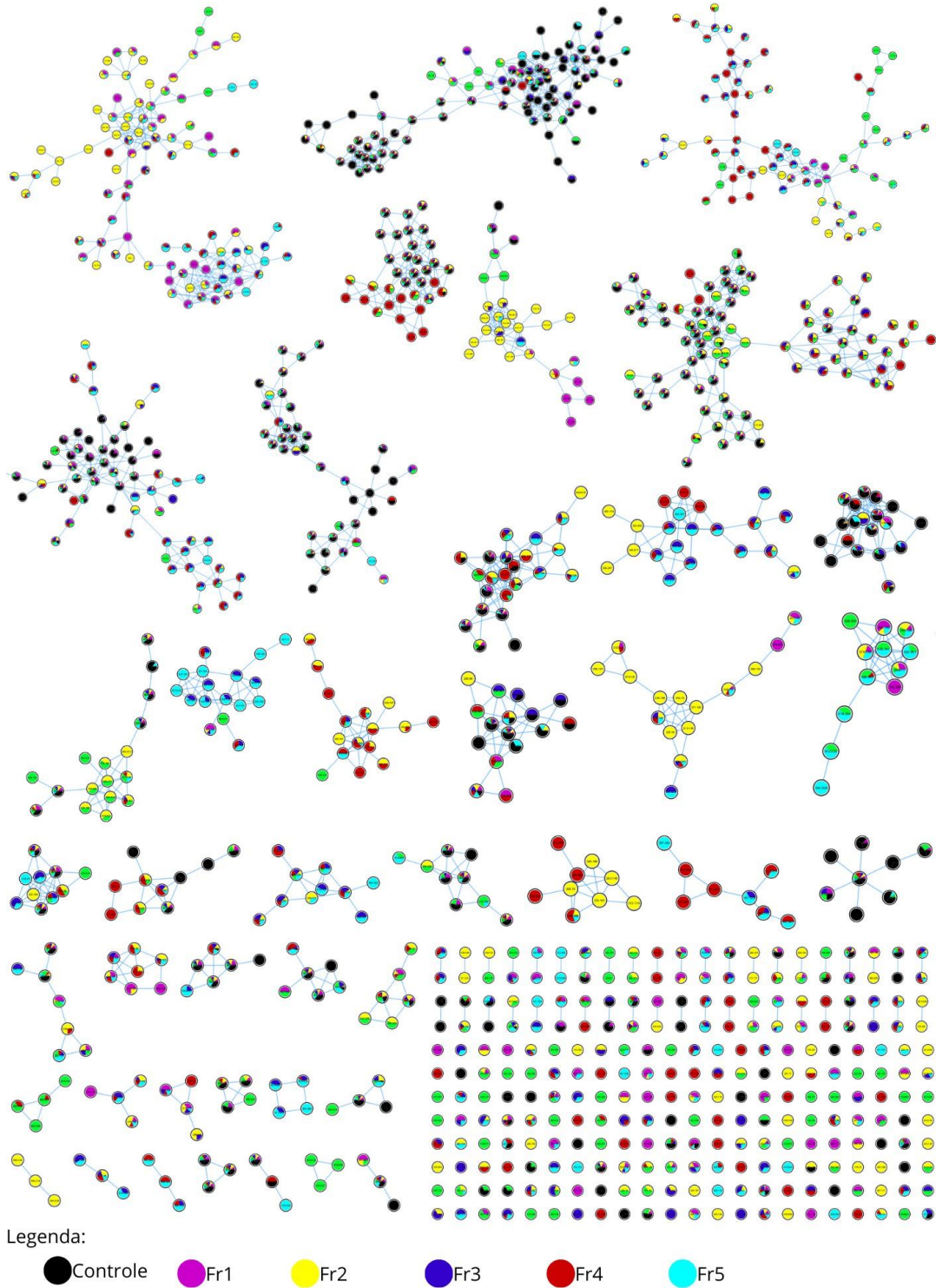
Existem diversos compostos produzidos por fungos do gênero *Neopestalotiopsis*, que apresentam vasta gama de atividades biológicas e despertam interesse para aplicação. A cepa fúngica de *N. clavispora* AL01, um fitopatógeno, produziu seis novos metabólitos secundários, clavisinona A, clavisinoide B, ácido clavisínico C, clavisina benzoxepina D, clavisinol E-F, desses, o ácido clavisínico C apresentou atividade antibacteriana frente a *S. aureus*, *M. luteus* e *Vibrio harveyi* (Abulaizi et al., 2024).

A partir da plataforma de espectrometria de massas baseado na web, GNPS2, criou-se as redes moleculares (figura 4) com o uso da ferramenta *Classical Networking Workflow*, presente na plataforma. Os espectros de massas das frações Fr1, Fr2, Fr3, Fr4, Fr5 (além do grupo controle) foram analisados, obtendo-se os dados espectrais de MS/MS. O software Cytoscape foi utilizado para visualização e análise dos dados obtidos. Ao todo, obteve-se 2658 nodos, sendo que cada um representa um espectro de massas. Os nodos que apresentaram setores com o grupo controle presente foram descartados para a análise do perfil químico, dessa forma, o número de nodos referentes apenas as frações obtidas foi de 1906.

O gráfico de dispersão apresentado na figura 5, mostra a relação dos nodos e das frações atribuídas, sendo possível avaliar os nodos exclusivos e compartilhados entre as frações. Em relação a cada uma das frações analisadas, Fr1 apresentou um total de 433 nodos, Fr2 teve 805, Fr3 com 553, Fr4 com 745, Fr5 com 511 nodos. A fração Fr2 apresentou maior número de nodos acumulados, além de que, obteve-se 262 nodos exclusivos dessa fração, o processo para obtenção dessa subfração seguiu-se com uma fase móvel de metanol 60%, o uso de hidrometanol é utilizado para a extração de compostos químicos com perfil entre não polar até polar.

Durante a extração dos metabólitos presentes na biomassa de arroz e fungo, utilizou-se metanol como solvente de extração, esse, é conhecido por extrair metabólitos mais polares, sugerindo a presença de compostos com caráter polar no extrato bruto utilizado para a obtenção das frações e subsequente (Ayalew et al., 2022; Dos Reis et al., 2024). As frações Fr1, Fr3, Fr4 e Fr5 apresentaram, respectivamente, 106, 15, 143 e 197 nodos exclusivos.

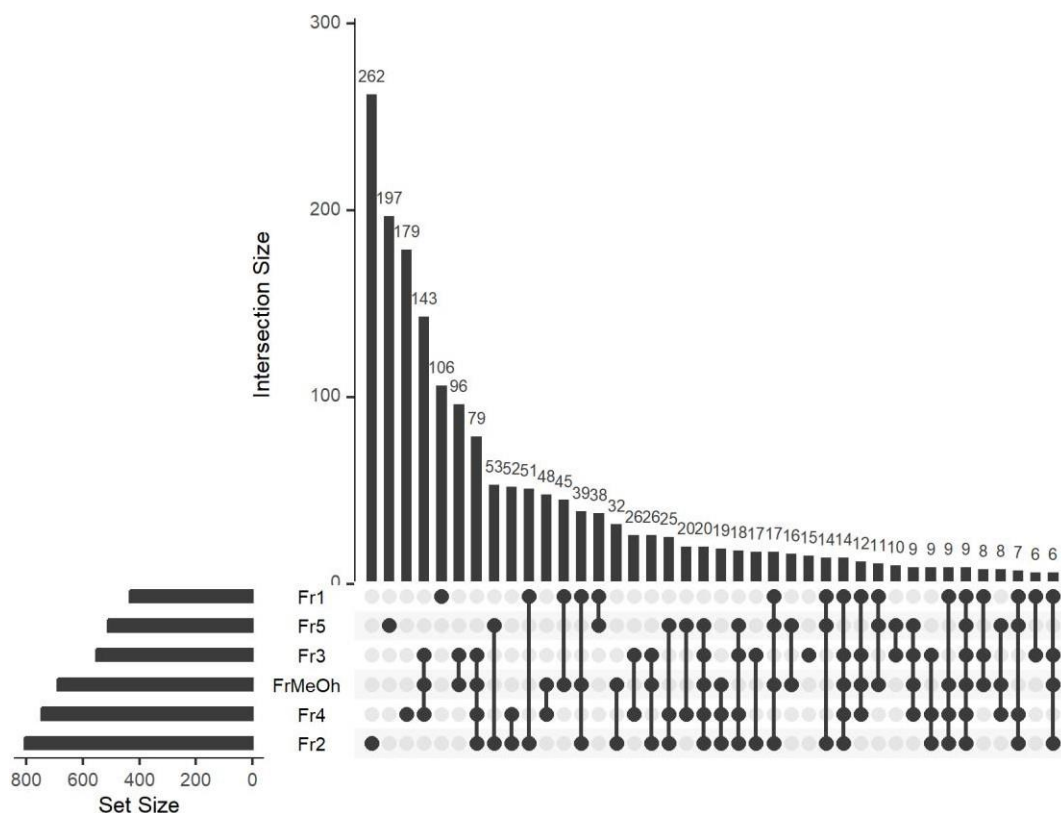
Figura 4 - Rede molecular das frações de *Neopetalotiopsis* sp. CG13\*



\*Rede molecular incompleta.

Autor, 2025.

Figura 5 – Diagrama de dispersão relacionando nodos obtidos e as frações



Fonte: Autor, 2025.

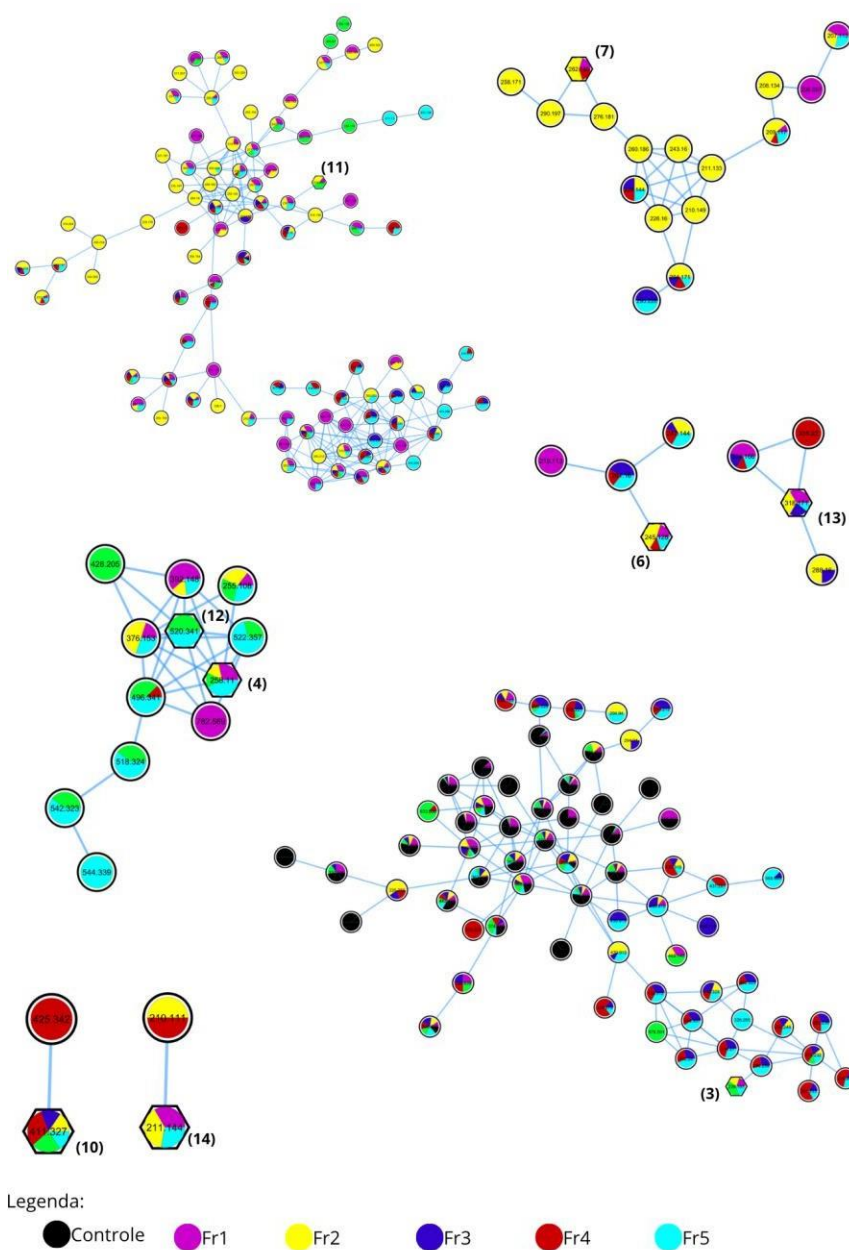
Para a anotação dos compostos, utilizou-se os seguintes critérios: os metabólitos relacionados com o espectro referente ao grupo controle foram descartados; comparou-se os espelhos dos espectros de massas, os picos compartilhados entre espectros e a similaridade dos valores dos cossenos, sendo que valores próximos de 1 são ideais; utilizando pesquisa na literatura pode-se determinar se os compostos correspondentes haviam sido relatados como sendo produzidos por microrganismos. A tabela 3 apresenta os compostos que foram anotados seguindo os critérios, e quais as frações atribuídas a cada metabólito. Na figura 6, observa-se os *clusters* que apresentaram anotações de compostos.

Tabela 3 – Anotação de metabólitos presentes nas frações de *Neopestalotiopsis* sp. CG13

<i>m/z</i>	Aduto	Compostos anotado	Fração atribuída
319,093	[M+H] <sup>+</sup>	Fenolftaleína (1)	Fr2
261,127	[M+H] <sup>+</sup>	Ciclo(tirosil-prolil) (2)	Fr1 e Fr5
228,197	[M-H <sub>2</sub> O+2H] <sup>+2</sup>	Acetato de vitamina E (3)	Fr1, Fr2 e Fr5
258,11	[M+H] <sup>+</sup>	Glicerofosfocolina (4)	Fr1, Fr2 e Fr5
379,239	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	Octocrileno (5)	Fr2 e Fr5
245,128	[M-H <sub>2</sub> O+H] <sup>+</sup>	Prolifenilalanina (6)	Fr1, Fr2 e Fr4
262,165	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	Ácido 4-oxododecanodióico (7)	Fr1, Fr2, e Fr4
801,442	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	Beauvericina (8)	Fr2 e Fr4
331,285	[M+H] <sup>+</sup>	2-Monopalmitina (9)	Fr2, Fr3, Fr4 e Fr5
348,312	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	2-Monopalmitina (9)	Fr2 e Fr4
411,327	[M-H <sub>2</sub> O+H] <sup>+</sup>	Peróxido de ergosterol (10)	Fr2, Fr3, Fr4 e Fr5
224,092	[M+H] <sup>+</sup>	<i>N</i> -acetil-L-tirosina (11)	Fr1, Fr2 e Fr5
520,341	[M+H] <sup>+</sup>	LPC (18:2/0:0) (12)	Fr5
318,171	[M+H] <sup>+</sup>	Denopamina (13)	Fr1, Fr2 e Fr3
211,144	[M+H] <sup>+</sup>	ciclo(L-isoleucil-L-prolil) (14)	Fr1 e Fr2
507,229	[M+H] <sup>+</sup>	Asperfenamato (15)	Fr1

Fonte: Autor, 2025.

Figura 6 – Clusters com compostos anotados



Fonte: Autor, 2025.

A fenolftaleína (1) (figura 7) é um composto orgânico, a Food and Drug Administration considera como uma substância que pode causar câncer, ademais, possui ampla aplicação, sendo utilizado como regulador de pH, produto para tratamento de água e laxante. Há relatos de microrganismos, como bactérias do solo, que produzem a fenolftaleína ao realizar a quebra de difosfato de fenolftaleína (Mahmoud et al., 1973; “Substance Information - ECHA”, [S.d.]).

O composto ciclo(tirosil-prolil) (2) é um produto natural que pode ser isolado de diversos microrganismos, como *Streptomyces* sp. e algas marinhas. O metabólito é um ciclodipeptídeo que apresenta atividade antibacteriana frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas*

*aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (Milne; Oliver; Roos, 1992; Sunaryanto et al., 2011).

Microorganismos como *E. coli* e *Saccharomyces cerevisiae* são capazes de sintetizar vitamina E, o metabólito acetato de vitamina E (**3**) é um éster com propriedades antioxidantes e fundamental para estabilidade de membranas celulares (Bidossi et al., 2017; Ye et al., 2022).

Glicerofosfocolina (**4**) pertence à classe de fosfocolinas, é um metabólito encontrado de *E. coli* e *S. cerevisiae*, normalmente, isolado durante a fermentação de grãos e vegetais. Considerado uma substância que estimula capacidade cognitiva, e utilizada como surfactante, emulsificante e suplemento nutricional (Oyeneye et al., 2020; Rosas-Rodríguez; Valenzuela-Soto, 2010). O composto octocrileno (**5**) é conhecido como um protetor solar orgânico, responsável por proteger a pele de raios ultravioleta, além disso, há ampla aplicação na indústria cosmética, produção de cremes, condicionadores e sprays. A plataforma microbeMASST apresentou bactérias que produziram o composto (Suleiman et al., 2019).

A prolifenilalanina (**6**) é um dipeptídeo obtido através de resíduos de L-prolina e L-fenilalanina. É um metabólito comumente associado a animais, sendo encontrado em urina e plasma humano, contudo, bactérias do gênero *Bacillus* e associadas são relatadas como produtoras da substância. Além disso, trata-se de um substrato enzimático, relacionado a vias do metabolismo de proteínas (Abdelghani et al., 2021; Hosseini et al., 2023).

Em 1970 o ácido 4-oxododecanodióico (**7**), composto que pertence à classe dos cetoácidos, foi identificado como um novo metabólito produzidos pelo fungo *F. moniliforme*, há relatos de outros microrganismos do mesmo gênero produtores desse ácido. O composto é utilizado no setor industrial por ser um precursor para produção de materiais, como polímeros biodegradáveis e poliéster (Gómez-Ramos et al., 2024; Sbrebryakov et al., 1970).

A beauvericina (**8**) é uma micotoxina da classe dos oligopeptídeos, o gênero de fungos *Fusarium* é conhecido como o principal produtor do composto. Trata-se de um metabólito que apresenta características citotóxicas, e com diversidade de atividades biológicas relatadas, como antiparasitária, antibacteriana, antifúngica e antitumoral (Hasuda; Bracarense, 2024; Vásquez-Bonilla et al., 2022).

O composto 2-monopalmitina (**9**) é um metabólito, da classe dos glicerolipídios, conhecido por ser produzido por *Escherichia coli*, além disso, outras bactérias como *Streptomyces* são conhecidas por produzirem o mesmo composto e derivados. Esse composto é relatado como tendo atividade antioxidante e anti-inflamatória, ademais, microrganismos produtores desse composto possuem atividade antagonista frente a fungos fitopatogênicos (Chen et al., 2018; Han; Wang; Luo, 2018).

O esteroide denominado peróxido de ergosterol (**10**) está presente em membranas celulares de microrganismos como fungos e bactérias, possuem função na fluidez e permeabilidade da membrana. Como atividades biológicas é relatado que o metabólito possui propriedades antioxidantes, anti-inflamatória, citotóxica e antifúngica (Rangsinth et al., 2023; Rodrigues, 2018). *N*-acetil-*L*-tirosina (**11**) é um metabólito da classe dos ácidos carboxílicos,

está presente na biossíntese de produtos naturais como talassotalatos e talassotalamidas, atuando como um intermediário, ademais, é encontrado em microrganismos como *Thalassotalea* (Bhandari; Bisht; Merkle, 2022).

O composto LPC (18:2) (**12**) possui como sinônimo o nome 2-linoleoilisofosfatidilcolina, trata-se de uma lisofosfatidilcolina, classe de compostos presentes na membrana celular de fungos, leveduras, bactérias e animais. Essa classe de metabólitos é conhecida por potencializar algumas atividades biológicas de outros compostos, como o caso da atividade antibacteriana de polimixina B (Ding et al., 2021; Yadav; Ismaeel; Qadri, 2020). A denopamina (**13**) é um composto utilizado na farmacologia para aumentar o débito cardíaco, aplicado em pacientes com insuficiência cardíaca que tiveram infarto do miocárdio. Existem microrganismos capazes de sintetizar o composto por biotransformação de acetofenona, como *Yarrowia lipolytica* (Janeczko et al., 2015; Vinaixa et al., 2012).

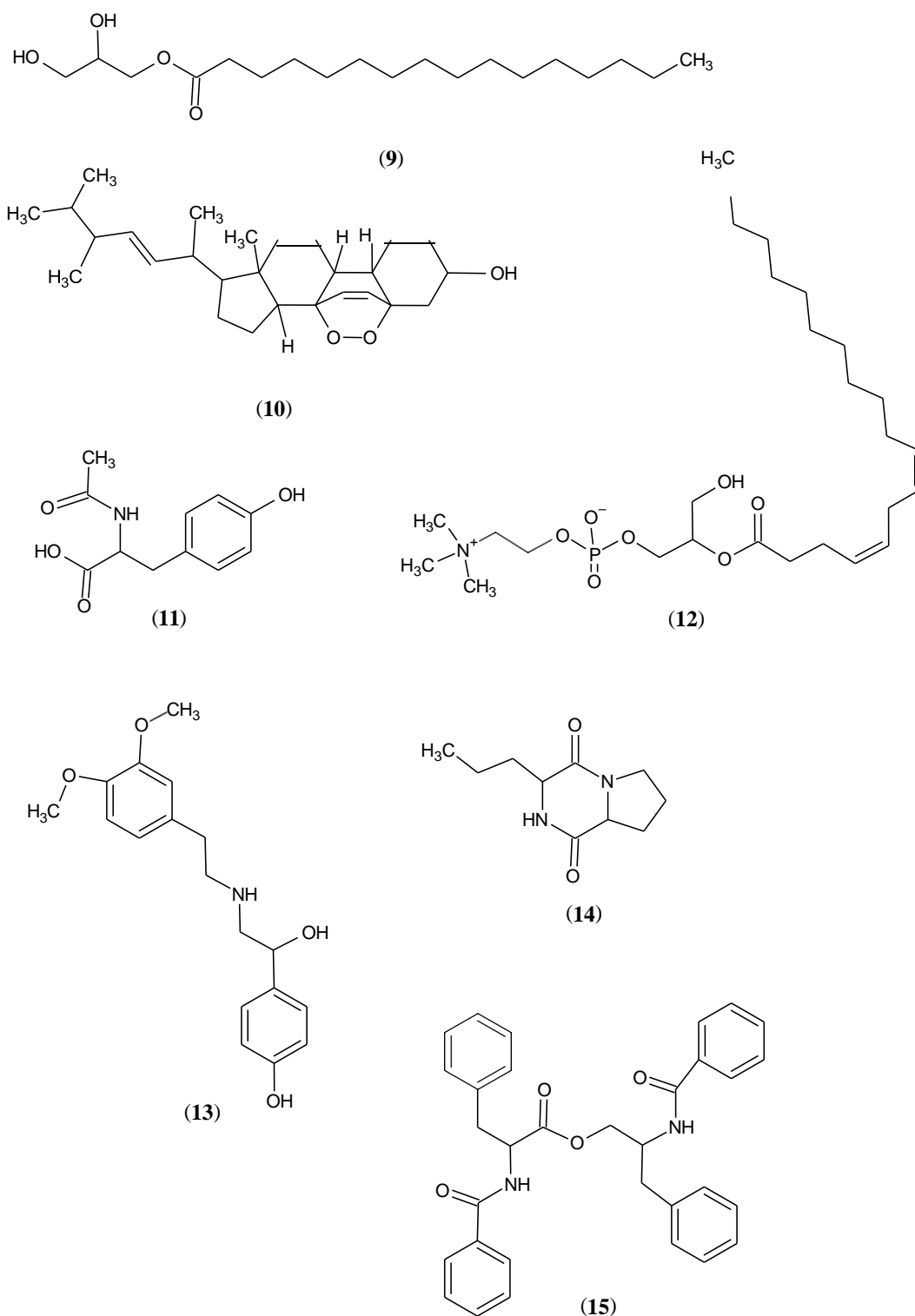
O composto ciclo(L-isoleucil-L-prolil) (**14**), foi relatado no banco de dados LOTUS como produzido por *Streptomyces nigra* e *Vibrio anguillarum*, trata-se de um organonitrogênio. Compostos da classe dos peptídeos cíclicos são conhecidos por terem atividades antimicrobianas e anticancerígenas (Bajaj, 2019; Chen et al., 2018; Fdhila et al., 2006). O asperfenamato (**15**) é um metabólito comum em espécies fúngicas do gênero *Penicillium* e *Aspergillus*, ademais, é encontrado em plantas como um produto de endófitos. É um composto que apresenta atividade anticancerígena, utilizado como agente antineoplásico na indústria farmacêutica (Frisvad et al., 2013).

Existem diversos estudos sobre o perfil químico de fungos do gênero *Neopestalotiopsis*, os metabólitos obtidos desse microrganismo são variados e possuem aplicações de interesse biotecnológico. Do extrato bruto de acetato de etila de *N. clavispora* foi relatado a produção de uma nova  $\alpha$ -pirona, um derivado de ácido tetrâmico, himenasetina e pestalotiolide B. O composto himenasetina apresentou atividade estrogênica ao aumentar a proliferação de células de câncer de mama humano (Kwon et al., 2022).

Do extrato de acetato de etila da cepa fitogênica *N. clavispora* AL01 obteve-se compostos derivados de policetídeos e terpenoides, sendo eles clavisinona A, clavisinoide B, ácido clavisínico C, benzoxepina D, Clavisinol E e clavisinato H. Entre os compostos obtidos, o ácido clavisínico C apresentou baixa atividade antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* (Abulaizi et al., 2024).

A diversidade metabólica desse gênero possui poucos estudos, visto que, a separação entre *Pestalotiopsis* e *Neopestalotiopsis* foi feita há pouco mais de 10 anos. Ainda assim, tem-





Fonte: Autor, 2025.

### 5.3 Ensaio de citotoxicidade

As células utilizadas no ensaio de citotoxicidade foram as células aderentes HaCaT (queratinócitos humanos não tumoral) e HCT-116 (epitelial humana, câncer de cólon). Para uma amostra ser considerada citotóxica o percentual de morte celular em relação ao controle negativo deve ser de 20%, ou superior, de morte celular em relação ao controle negativo

(DMSO), sendo que nenhuma das amostras apresentou esse percentual. Das frações, a que demonstrou alguma citotoxicidade foi a Fr5, com valores de EC<sub>50</sub> de 20 µg/mL para HCT-116 e 36,9 µg/mL para HaCaT, tendo um índice de seletividade inicial de 1,8 (tabela 4).

O índice de seletividade inicial (IS) indica a segurança relativa da amostra testada em células não tumorais em comparação com as células tumorais, esse cálculo é feito pela razão entre EC<sub>50</sub> de células não tumorais e EC<sub>50</sub> de células tumorais. Quando o valor de IS é superior a 1, determina-se que a amostra é mais seletiva as células tumorais (Barba-Ostria et al., 2022; Ziemlewska; Zagórska-Dziok; Nizioł-Łukaszewska, 2021).

Tabela 4. Resultados do ensaio de citotoxicidade das subfrações de extrato de *Neopestalotiopsis* sp. CGF13

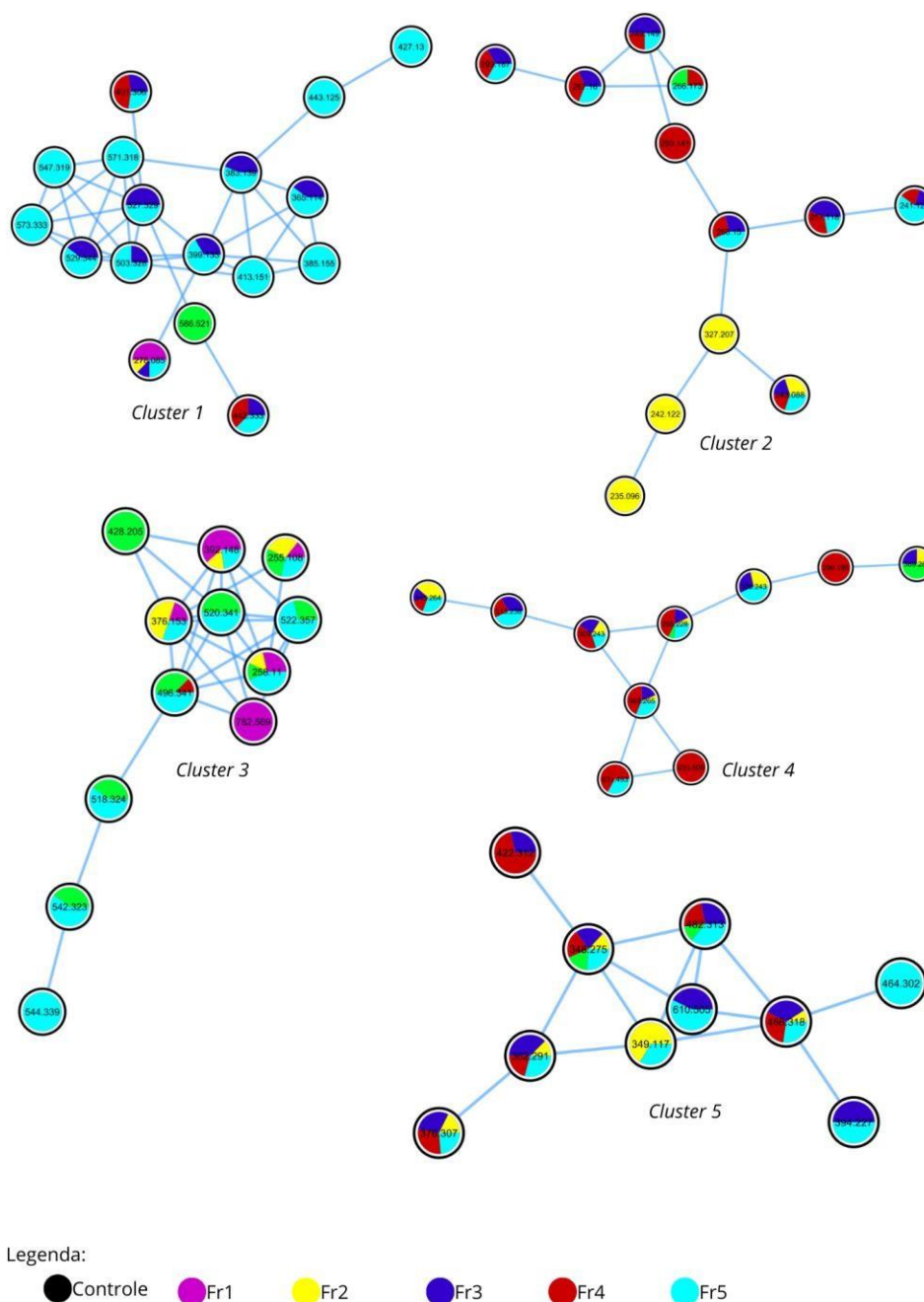
ID	Morte celular (%) a 4,5 µg/mL ou 4,5 µM		Linhagem EC <sub>50</sub> (g/mL)		
	HaCaT %	HCT-116 %	HaCaT	HCT-116	(IS)
Fr1	0	0	>39,8E-6	>39,8E-6	N. D
Fr2	1	0	>39,8E-6	>39,8E-6	N. D
Fr3	0	0	>39,8E-6	>39,8E-6	N. D
Fr4	1	0	>39,8E-6	>39,8E-6	N. D
Fr5	0	0	3,69E-5	2,02E-5	1,8
Paclitaxel	97	95	2,7E-9	2,5E-9	1,1

Legenda: (EC<sub>50</sub>) concentração do fármaco que induz metade do efeito máximo; (IS) índice de seletividade inicial; (N. D) não determinada.

Fonte: Autor, 2025.

A amostra Fr5 apresentou 197 nodos exclusivos, indicando a possibilidade de algum composto com potencial citotóxico e anticancerígeno. O composto LPC (18:2) (**12**) foi anotado unicamente nessa subfração, contudo, não há relatos de atividade citotóxica. Além disso, anotou-se nas subfrações Fr2, Fr3, Fr4 e Fr5 o peróxido de ergosterol (**10**), composto utilizado como agente antineoplásico, havendo relatos de atividade anticancerígena do metabólito contra câncer de pulmão, câncer de ovário, câncer de mama, câncer de próstata e outros (LIU *et al.*, 2024). A figura 8 apresenta os principais *clusters* com a presença majoritária da subfração Fr5, não houve anotação de compostos entre os nodos apresentados na imagem, porém, o *cluster* 3 apresenta compostos pertencentes a classe das lisofosfatidilcolina, essa classe é conhecida por apresentar atividades antimicrobianas (Yadav; Ismaeel; Qadri, 2020).

Figura 8 – Cluster com predominância da subfração Fr5



Fonte: Autor, 2025.

Algumas espécies de *Neopestalotiopsis* são caracterizadas como produtoras de substâncias anticancerígenas. Da cepa fúngica *Neopestalotiopsis* sp. SKE15 obteve-se um exopolissacarídeo bioativo, que apresenta diversas aplicações medicinais, como atividade antibacteriana, citotoxicidade e atividade antioxidante. No estudo, o exopolissacarídeo obtido apresentou como principais componentes da sua constituição o D-glicose, sorbitol e D-galactose (Fooladi et al., 2019). Ademais, o endófito *Neopestalotiopsis* sp. MFLUCC15-1130, isolado de *Cinnamomum loureiroi*, apresentou um perfil químico diverso, com elevada produção de eugenol, composto com atividade anticancerígena (Tanapichatsakul et al., 2019; Zari; Zari; Hakeem, 2021).

#### 5.4 Ensaio antimicrobiano

As frações utilizadas não demonstram potencial como agentes antibacterianos frente as bactérias *E. coli* e *S. maltophilia* (Figura 9). Todavia, pode-se notar que a fração Fr5 afetou o surgimento de colônias de *E. coli*, ainda que não tenha formado um halo de inibição mensurável.

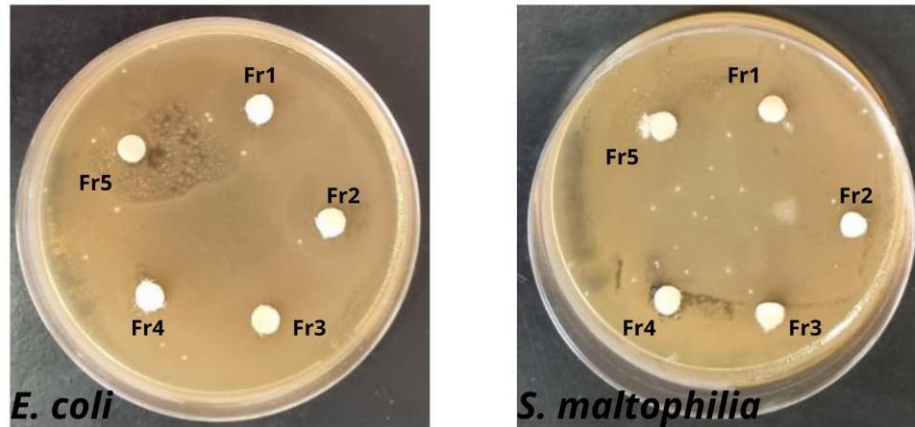
Nessa fração foi possível anotar compostos que apresentam atividade antibacteriana, como ciclo(tirosil-prolil) (Milne; Oliver; Roos, 1992; Sunaryanto et al., 2011), ademais, há exclusividade do composto LPC (18:2) em Fr5, essa lisofosfatidilcolina é conhecida por potencializar a atividade antibacteriana de outros metabólitos (Ding et al., 2021; Yadav; Ismaeel; Qadri, 2020).

Um relatório apresentado pela OMS mostrou aumento da resistência das bactérias que causam infecções comuns a medicamentos conhecidos. Entre as cepas isoladas, diversas cepas de *E. coli* apresentaram resistência a medicamentos como anilina e fluoroquinolonas, fator que indica a importância de obtenção de novos compostos capazes de controlar essas doenças infecciosas (“Relatório sinaliza aumento da resistência a antibióticos em infecções bacterianas em humanos”, 2022). Em relação a bactéria *S. maltophilia*, sabe-se que é resistente a diversos medicamentos conhecidos, e pode causar infecções complexas. É reconhecida pela OMS como um patógeno emergente, havendo necessidade de busca por novos compostos capazes de controlar esse patógeno (Said; Tirthani; Lesho, 2025).

Do extrato de acetato de etila da cepa fitogênica *N. clavispota* AL01 obteve-se compostos derivados de policetídeos e terpenoides, entre esses, isolou-se o ácido clavisínico C, que apresentou baixa atividade antibacteriana frente à *Staphylococcus aureus* (Abulaizi et al., 2024). Ademais, a cepa *Neopestalotiopsis* sp. SKE15 foi capaz de produzir um exopolissacarídeo constituído de D-glicose, sorbitol e D-galactose, esse produto apresentou

atividade antibacteriana contra cepas de bactérias como *S. aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa* (Fooladi et al., 2019).

Figura 9 – Ensaio antibacteriano das frações obtidas do cultivo de *Neopestalotiopsis* sp.



Fonte: Autor, 2025.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da rede molecular obtida no GNPS2 pode-se anotar 15 compostos atribuídos as subfrações do fungo endofítico *Neopestalotiopsis* sp. CGF13, sendo eles: fenolftaleína, ciclo(tirosil-prolil), acetato de vitamina E, glicerofosfocolina, octocrileno, prolifenilalanina, ácido 4-oxododecanodióico, beauvericina, Monopalmitina, peróxido de ergosterol, *N*-acetil- *L*-tirosina, LPC (18:2), denopamina, dicetopiperazina e asperfenamato. Com o ensaio de citotoxicidade das subfrações contra células humanas HaCaT (não tumoral) e HCT-116 (tumoral) notou-se que não houve atividade citotóxica considerável, no entanto a subfração Fr5 apresentou valor de seletividade inicial igual a 1,8, demonstrando alguma citotoxicidade, sugerindo a presença de compostos bioativos citotóxicos exclusivos a essa subfração. Não houve atividade antibacteriana frente as cepas utilizadas, *E. coli* e *S. maltophilia*, contudo, é possível perceber que a fração Fr5 afetou o crescimento de *E. coli*, o que indica que caso haja aumento da concentração da fração será possível observar alguma atividade, acrescenta-se a perspectiva de isolamento de algum composto dessa fração capaz de apresentar bioatividade.

## REFERÊNCIAS

ABDELGHANI, Zainab *et al.* Therapeutic applications and biological activities of bacterial bioactive extracts. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 8, p. 4755–4776, 2021.

ABULAIZI, Ailiman *et al.* Isolation and biological activity of six new polyketide and terpenoid derivatives from *Neopestalotiopsis Clavispora* AL01. **Fitoterapia**, v. 177, p. 106130, 1 set. 2024.

ARAÚJO, Kaliane Sírío *et al.* Five new species of endophytic *Penicillium* from rubber trees in the Brazilian Amazon. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 4, p. 3051–3074, 1 dez. 2024.

ARIS, Parisa *et al.* Griseofulvin: An Updated Overview of Old and Current Knowledge. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 7034, jan. 2022.

ARON, Allegra T. *et al.* Reproducible molecular networking of untargeted mass spectrometry data using GNPS. **Nature Protocols**, v. 15, n. 6, p. 1954–1991, jun. 2020.

AYALEW, Mihret *et al.* Evaluation of the antidiarrheal activity of 80% methanol extract and solvent fractions of the leaf of *Bersama abyssinica* fresen (Melianthaceae) in mice. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 22, n. 1, p. 8, 6 jan. 2022.

BAJAJ, Kiran. Chapter 9 - Natural Bioactive Cyclic Peptides and Peptidomimetics. *In*: ATTA-UR-RAHMAN (Org.). **Studies in Natural Products Chemistry**. [S.l.]: Elsevier, 2019. v. 62 p. 343–376.

BARBA-OSTRIA, Carlos *et al.* Evaluation of Biological Activity of Natural Compounds: Current Trends and Methods. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4490, jan. 2022.

BHANDARI, Suzeeta; BISHT, Kirpal S.; MERKLER, David J. The Biosynthesis and Metabolism of the N-Acylated Aromatic Amino Acids: N-Acylphenylalanine, N-Acyltyrosine, N-Acyltryptophan, and N-Acylhistidine. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, 3 jan. 2022.

BIDOSSI, Alessandro *et al.* In vitro comparison between  $\alpha$ -tocopheryl acetate and  $\alpha$ -tocopheryl phosphate against bacteria responsible of prosthetic and joint infections. **PLoS ONE**, v. 12, n. 7, p. e0182323, 31 jul. 2017.

CHEN, Can *et al.* *Streptomyces nigra* sp. nov. Is a Novel Actinobacterium Isolated From Mangrove Soil and Exerts a Potent Antitumor Activity in Vitro. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1587, 18 jul. 2018.

COERTJENS, Nicole Carneiro; MASCARENHAS, Maria do Socorro; BATISTOTE, Margareth. Fungos endofíticos brasileiros: potencial biotecnológico em evidência. **Diversitas Journal**, v. 9, n. 3, 20 jul. 2024.

CORREIA, João *et al.* Beyond Penicillin: The Potential of Filamentous Fungi for Drug Discovery in the Age of Antibiotic Resistance. **Antibiotics**, v. 12, n. 8, p. 1250, ago. 2023.

CUNHA, Camila L. *et al.* A New Isoflavone and Other Constituents from Roots of *Clitoria guianensis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 1753–1757, 27 jul. 2020.

DA SILVEIRA BASTOS, Isabela Maria Agustini *et al.* Diversity of fungal endophytes from mangrove plants of Santa Catarina Island, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 2, p. 1477–1487, 1 jun. 2024.

DARAPANIT, Angwara *et al.* Identification, pathogenicity and effects of plant extracts on *Neopestalotiopsis* and *Pseudopestalotiopsis* causing fruit diseases. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 22606, 19 nov. 2021.

DE CARVALHO, Camila Rodrigues *et al.* Diversity, Ecology, and Bioprospecting of Endophytic Fungi in the Brazilian Biomes of Rupestrian Grasslands, Caatinga, Pampa, and Pantanal. In: ROSA, Luiz Henrique (Org.). **Neotropical Endophytic Fungi: Diversity, Ecology, and Biotechnological Applications**. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 151–176.

DING, Jun *et al.* A metabolome atlas of the aging mouse brain. **Nature Communications**, v. 12, p. 6021, 15 out. 2021.

DOS REIS, Jefferson Brendon Almeida *et al.* The hidden treasures in endophytic fungi: a comprehensive review on the diversity of fungal bioactive metabolites, usual analytical methodologies, and applications. **Archives of Microbiology**, v. 206, n. 4, p. 185, 20 mar. 2024.

DOS REIS, Jefferson Brendon Almeida; DO VALE, Helson Mário Martins; LORENZI, Adriana Sturion. Insights into taxonomic diversity and bioprospecting potential of Cerrado endophytic fungi: a review exploring an unique Brazilian biome and methodological limitations. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 11, p. 202, 24 ago. 2022.

DOS SANTOS, Germana D. *et al.* Molecular Identification and Antimicrobial Activity of Foliar Endophytic Fungi on the Brazilian Pepper Tree (*Schinus terebinthifolius*) Reveal New Species of Diaporthe. **Current Microbiology**, v. 78, n. 8, p. 3218–3229, 1 ago. 2021.

ELKADY, Wafaa M. *et al.* Endophytic Fungus from *Opuntia ficus-indica*: A Source of Potential Bioactive Antimicrobial Compounds against Multidrug-Resistant Bacteria. **Plants**, v. 11, n. 8, p. 1070, jan. 2022.

EO, Ju-Kyeong; CHOI, Jae-Wook; EOM, Ahn-Heum. Diversity, Distribution, and Host Plant of Endophytic Fungi: A Focus on Korea. **Mycobiology**, v. 50, n. 6, p. 399–407, 2 nov. 2022.

FAYEK, Menna *et al.* Anti-prostate cancer metabolites from the soil-derived *Aspergillus neoniveus*. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 14 out. 2022.

FDHILA, Faouzi *et al.* dd-Diketopiperazines: Antibiotics Active against *Vibrio anguillarum* Isolated from Marine Bacteria Associated with Cultures of *Pecten maximus*. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 7, p. 1120–1120, 1 jul. 2006.

FERRAZ, Luana Fernandes *et al.* Biotechnological potential of the endophytic fungi isolated from *Clitoria guianensis*. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 12, n. 2, p. 82–91, 3 jun. 2024.

- FERRO, Layanne O. *et al.* Filling a gap: endophytic fungal diversity in the leaves of *Miconia mirabilis* in the Atlantic Forest (Brazil) and the description of a new *Muyocopron* species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 37, p. e20230101, 11 dez. 2023.
- FOOLADI, Tayebah *et al.* Bioactive exopolysaccharide from *Neopestalotiopsis* sp. strain SKE15: Production, characterization and optimization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 129, p. 127–139, 15 maio 2019.
- FRISVAD, Jens C. *et al.* Two new *Penicillium* species *Penicillium buchwaldii* and *Penicillium spathulatum*, producing the anticancer compound asperphenamate. **FEMS Microbiology Letters**, v. 339, n. 2, p. 77–92, 1 fev. 2013.
- GAO, Yuan *et al.* Endophytic Fungal Diversity and Its Interaction Mechanism with Medicinal Plants. **Molecules**, v. 30, n. 5, p. 1028, jan. 2025.
- GHOLAMI, Masumeh *et al.* Basidiomycetes fungi as biocontrol agents against take-all disease of wheat. **Biological Control**, v. 130, p. 34–43, 1 mar. 2019.
- GÓMEZ-RAMOS, María José *et al.* Recent Developments in Mass Spectrometry for the Detection of Non-Volatile Plastic Food Packaging Contaminants. *In: Mass Spectrometry in Food Analysis. [S.l.]: WORLD SCIENTIFIC, 2024. p. 249–275.*
- GRABKA, Rachel *et al.* Fungal Endophytes and Their Role in Agricultural Plant Protection against Pests and Pathogens. **Plants**, v. 11, n. 3, p. 384, jan. 2022.
- HAN, Dandan; WANG, Lanying; LUO, Yanping. Isolation, identification, and the growth promoting effects of two antagonistic actinomycete strains from the rhizosphere of *Mikania micrantha* Kunth. **Microbiological Research**, v. 208, p. 1–11, 1 mar. 2018.
- HASHEM, Amr H. *et al.* Bioactive compounds and biomedical applications of endophytic fungi: a recent review. **Microbial Cell Factories**, v. 22, n. 1, p. 107, 6 jun. 2023.
- HASUDA, Amanda Lopes; BRACARENSE, Ana Paula F. R. L. Toxicity of the emerging mycotoxins beauvericin and enniatins: A mini-review. **Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology**, v. 239, p. 107534, 23 fev. 2024.
- HESHAM, Abd El-Latif *et al.* (ORGS.). **Fungal Biotechnology and Bioengineering**. Cham: Springer International Publishing, 2020.
- HOSSEINI, Elham *et al.* Targeted Amino Acids Profiling of Human Seminal Plasma from Teratozoospermia Patients Using LC-MS/MS. **Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.)**, v. 30, n. 11, p. 3285–3295, nov. 2023.
- HYDE, Kevin D. *et al.* Fungal numbers: global needs for a realistic assessment. **Fungal Diversity**, v. 128, n. 1, p. 191–225, 1 set. 2024.
- JANECZKO, Tomasz *et al.* Biotransformation of acetophenone and its halogen derivatives by *Yarrowia lipolytica* strains. **Annals of Microbiology**, v. 65, n. 2, p. 1097–1107, jun. 2015.
- JIANG, Zhiming *et al.* Pestalotinones A–D, new benzophenone antibiotics from endophytic fungus *Pestalotiopsis trachicarpicola* SC-J551. **The Journal of Antibiotics**, v. 75, n. 4, p. 207–212, abr. 2022.

KIRK, Paul M. Species Fungorum Plus (version Apr 2024). *In: Catalogue of Life*. Amsterdam, Netherlands: Catalogue of Life, 2025.

KWON, Haeun *et al.* Chemical constituents from *Neopestalotiopsis clavispota* culture medium with estrogenic effects in MCF-7 cells. **Phytochemistry Letters**, v. 52, p. 134–137, 1 dez. 2022.

LIN, Xuemei; KÜCK, Ulrich. Cephalosporins as key lead generation beta-lactam antibiotics. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 106, n. 24, p. 8007–8020, 1 dez. 2022.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N. *et al.* *Pestalotiopsis* revisited. **Studies in Mycology**, v. 79, p. 121–186, 1 set. 2014.

MAHMOUD, S. A. Z. *et al.* Phenolphthalein Diphosphate Splitting Bacteria in Soil and Rhizosphere of Wheat and Broad Bean in Soils of Egypt. **Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Zweite Naturwissenschaftliche Abteilung: Allgemeine, Landwirtschaftliche und Technische Mikrobiologie**, v. 128, n. 5, p. 524–527, 1 jan. 1973.

MANGANYI, Madira Coutlyne; ATEBA, Collins Njie. Untapped Potentials of Endophytic Fungi: A Review of Novel Bioactive Compounds with Biological Applications. **Microorganisms**, v. 8, n. 12, p. 1934, dez. 2020.

MILNE, P. J.; OLIVER, D. W.; ROOS, H. M. Cyclodipeptides: Structure and conformation of cyclo(tyrosyl-prolyl). **Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research**, v. 22, n. 6, p. 643–649, 1 dez. 1992.

MORAIS, Estefenson Marques *et al.* Endophytic Trichoderma strains isolated from forest species of the Cerrado-Caatinga ecotone are potential biocontrol agents against crop pathogenic fungi. **PLOS ONE**, v. 17, n. 4, p. e0265824, 15 abr. 2022.

MUELLER, Gregory M. *et al.* What Do the First 597 Global Fungal Red List Assessments Tell Us about the Threat Status of Fungi? **Diversity**, v. 14, n. 9, p. 736, set. 2022.

NEVES, Felipe Oliveira *et al.* Unveiling the Therapeutic Potential of *Clitoria Guianensis* (Aubl.) Benth Var. *Guianensis*: A Comprehensive Review of its AntiInflammatory and Wound Healing Properties. **Global Journal of Human-Social Science**, p. 29–49, 2 maio 2024.

OLIVEIRA, Dener M. S. *et al.* Crop, livestock, and forestry integration to reconcile soil health, food production, and climate change mitigation in the Brazilian Cerrado: A review. **Geoderma Regional**, v. 37, p. e00796, 1 jun. 2024.

OLIVEIRA, Dener Márcio da Silva *et al.* Climate-smart agriculture and soil C sequestration in Brazilian Cerrado: a systematic review. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 47, p. e0220055, 20 mar. 2023.

OYENEYE, Adebimpe *et al.* Production of  $\alpha$ -Glycerylphosphorylcholine and Other Compounds from Wheat Fermentation. **ACS Omega**, v. 5, n. 21, p. 12486–12494, 2 jun. 2020.

OZIMEK, Ewa; HANAKA, Agnieszka. Mortierella Species as the Plant Growth-Promoting Fungi Present in the Agricultural Soils. **Agriculture**, v. 11, n. 1, p. 7, jan. 2021.

PACHECO FILL, Taícia (ORG.). **Microbial Natural Products Chemistry: A Metabolomics Approach**. Cham: Springer International Publishing, 2023. v. 1439

PRASAD, Ram; ZHANG, Shi-Hong (ORGS.). **Beneficial Microorganisms in Agriculture**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2022.

QIN, Guo-Fei *et al.* MS/MS-Based Molecular Networking: An Efficient Approach for Natural Products Dereplication. **Molecules**, v. 28, n. 1, p. 157, jan. 2023.

RANA, Kusam Lata *et al.* Biodiversity of Endophytic Fungi from Diverse Niches and Their Biotechnological Applications. *In*: SINGH, Bhim Pratap (Org.). **Advances in Endophytic Fungal Research**. Fungal Biology. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 105–144.

RANGSINTH, Panthakarn *et al.* Potential Beneficial Effects and Pharmacological Properties of Ergosterol, a Common Bioactive Compound in Edible Mushrooms. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 13, p. 2529, 29 jun. 2023.

**Relatório sinaliza aumento da resistência a antibióticos em infecções bacterianas em humanos**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2022-relatorio-sinaliza-aumento-da-resistencia-antibioticos-em-infeccoes-bacterianas>>. Acesso em: 12 ago. 2025.

RICCI, A. P. *et al.* Isolation and molecular identification of endophytic fungi associated with *Campomanesia adamantium*, a Brazilian Cerrado plant. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e281308, 22 jul. 2024.

RODRIGUES, Marcio L. The Multifunctional Fungal Ergosterol. **mBio**, v. 9, n. 5, p. 10.1128/mbio.01755-18, 18 set. 2018.

ROSAS-RODRÍGUEZ, Jesús A.; VALENZUELA-SOTO, Elisa M. Enzymes involved in osmolyte synthesis: How does oxidative stress affect osmoregulation in renal cells? **Life Sciences**, v. 87, n. 17, p. 515–520, 23 out. 2010.

SAID, Mina S.; TIRTHANI, Ekta; LESHU, Emil. *Stenotrophomonas Maltophilia*. *In*: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025.

SBREBRYAKOV, E. P. *et al.* New metabolites of *Fusarium moniliforme* sheld. **Tetrahedron**, v. 26, n. 22, p. 5215–5223, 1 jan. 1970.

SCHMID, Robin *et al.* Ion identity molecular networking for mass spectrometry-based metabolomics in the GNPS environment. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 3832, 22 jun. 2021.

SHAMIM, Md *et al.* Economical and Environmental Impact of Rice Fungal Diseases on Global Food Security. *In*: **Fungal Diseases of Rice and Their Management**. [S.l.]: Apple Academic Press, 2024.

SHI, Jie *et al.* Occurrence of *Neopestalotiopsis clavispora* Causing Apple Leaf Spot in China. **Agronomy**, v. 14, n. 8, p. 1658, ago. 2024.

SINGH, Bhim Pratap *et al.* (ORGS.). **Endophytic Fungi: The Hidden Sustainable Jewels for the Pharmaceutical and Agricultural Industries**. Cham: Springer International Publishing, 2024.

SOUSA, Frank Bruno Vieira De *et al.* Chemical constituents and in vivo preliminary evaluation of the toxicological activity of *Ouratea spectabilis* (OCHNACEAE) and *Clitoria guianensis* (Fabaceae) leaves. **Bioscience Journal**, v. 39, p. e39010, 27 jan. 2023.

SPORMANN, Alfred M. **Principles of Microbial Metabolism and Metabolic Ecology**. Cham: Springer International Publishing, 2023.

**Substance Information - ECHA**. Disponível em: <<https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.000.914>>. Acesso em: 6 mar. 2025.

SULEIMAN, Marcel *et al.* Microbial biofilm formation and degradation of octocrylene, a UV absorber found in sunscreen. **Communications Biology**, v. 2, n. 1, p. 1–5, 22 nov. 2019.

SUNARYANTO, Rofiq *et al.* Cyclo (Tyrosyl-Prolyl) Produced by *Streptomyces* sp.: Bioactivity and Molecular Structure Elucidation. **Microbiology Indonesia**, v. 5, n. 2, p. 81–87, jun. 2011.

TANAPICHATSAKUL, Chutima *et al.* Production of eugenol from fungal endophytes *Neopestalotiopsis* sp. and *Diaporthe* sp. isolated from *Cinnamomum loureiroi* leaves. **PeerJ**, v. 7, p. e6427, 12 fev. 2019.

TIWARI, Pragya; BAE, Hanhong. Endophytic Fungi: Key Insights, Emerging Prospects, and Challenges in Natural Product Drug Discovery. **Microorganisms**, v. 10, n. 2, p. 360, fev. 2022.

TORTORA, Gerard J.; CASE, Christine L.; FUNKE, Berdell R. **Microbiologia - 12ª Edição**. [S.l.]: Artmed Editora, 2016.

TRINDADE, Marcelo Antônio da *et al.* Medicinal plants with potential antihypertensive properties: emphasis on natural products from the Brazilian Cerrado<sup/>. **Hoehnea**, v. 49, p. e1232020, 24 jan. 2022.

URBANIAK, Monika *et al.* Naturally-produced beauvericins and divergence of <em>BEAS</em> gene among <em>Fusarium</em> and <em>Trichoderma</em> species. In: 1ST INTERNATIONAL ELECTRONIC CONFERENCE ON TOXINS. **Proceedings of 1st International Electronic Conference on Toxins**. Sciforum.net: MDPI, 14 jan. 2021. Disponível em: <<https://sciforum.net/paper/view/9145>>. Acesso em: 30 mar. 2025

VÁSQUEZ-BONILLA, J. Norberto *et al.* Improvement of beauvericin production by *Fusarium oxysporum* AB2 under solid-state fermentation using an optimised liquid medium and co-cultures. **Mycotoxin Research**, v. 38, n. 3, p. 175–183, ago. 2022.

VINAIXA, Maria *et al.* A Guideline to Univariate Statistical Analysis for LC/MS-Based Untargeted Metabolomics-Derived Data. **Metabolites**, v. 2, n. 4, p. 775–795, 18 out. 2012.

WANG, Jian *et al.* Fungal solid-state fermentation of crops and their by-products to obtain protein resources: The next frontier of food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 138, p. 628–644, 1 ago. 2023.

WANG, Ming. **Documentação GNPS2**. Disponível em: <[https://wang-bioinformatics-lab.github.io/GNPS2\\_Documentation/](https://wang-bioinformatics-lab.github.io/GNPS2_Documentation/)>. Acesso em: 22 out. 2025.

XU, Rui *et al.* Enhanced detection and annotation of small molecules in metabolomics using molecular-network-oriented parameter optimization. **Molecular Omics**, v. 17, n. 5, p. 665–676, 2021.

YADAV, Jitender; ISMAEEL, Sana; QADRI, Ayub. Lysophosphatidylcholine Potentiates Antibacterial Activity of Polymyxin B. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 64, n. 12, p. e01337-20, 17 nov. 2020.

YE, Ziling *et al.* Revolution of vitamin E production by starting from microbial fermented farnesene to isophytol. **The Innovation**, v. 3, n. 3, p. 100228, 10 maio 2022.

ZARI, Ali T.; ZARI, Talal A.; HAKEEM, Khalid Rehman. Anticancer Properties of Eugenol: A Review. **Molecules**, v. 26, n. 23, p. 7407, 6 dez. 2021.

ZHANG, Dekui *et al.* Antimicrobial and Cytotoxic Activity of Endophytic Fungi from *Lagopsis supina*. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 543–551, 28 abr. 2023.

ZHANG, Weishan *et al.* Updating the Species Diversity of Pestalotioid Fungi: Four New Species of *Neopestalotiopsis* and *Pestalotiopsis*. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 7, p. 475, jul. 2024.

ZIEMLEWSKA, Aleksandra; ZAGÓRSKA-DZIOK, Martyna; NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA, Zofia. Assessment of cytotoxicity and antioxidant properties of berry leaves as by-products with potential application in cosmetic and pharmaceutical products. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 3240, 5 fev. 2021.

ZIHAD, S. M. Neamul Kabir *et al.* Isolation and Characterization of Antibacterial Compounds from *Aspergillus fumigatus*: An Endophytic Fungus from a Mangrove Plant of the Sundarbans. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2022, n. 1, p. 9600079, 2022.