



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
LABORATÓRIO DE BIOPROSPECÇÃO E BIOTECNOLOGIA

KARYNE KATHLEN GUEDES DA SILVA

AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS DE
Palicourea prancei (RUBIACEAE)

MANAUS

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
LABORATÓRIO DE BIOPROSPECÇÃO E BIOTECNOLOGIA

KARYNE KATHLEN GUEDES DA SILVA

AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS DE
Palicourea prancei (**RUBIACEAE**)

Dissertação apresentada ao Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biotecnologia, área de concentração Biotecnologia para a Saúde.

ORIENTADORA: DRA. CECILIA VERONICA NUNEZ

MANAUS

2025

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

-
- S586a Silva, Karyne Kathlen Guedes da
Avaliação química e biológica dos fungos endofíticos de *Palicourea prancei* (Rubiaceae) / Karyne Kathlen Guedes da Silva. - 2025.
131 f. : il., color. ; 31 cm.
- Orientador(a): Cecilia Veronica Nunez.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Manaus, 2025.
1. Bioprospecção. 2. Citocalasina. 3. Metabólitos secundários. 4. *Palicourea prancei*. 5. *Xylaria cubensis*. I. Nunez, Cecilia Veronica. II. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. III. Título
-

À minha avó, Maria das Graças (*In memorian*)

À minha tia, Kassia (*In memorian*)

Ao pai da minha irmã de vidas passadas,
Ademir (*In memorian*)

Aos meus avós, Carmosina e Pedro

Aos meus pais, Keyty e Angelo

AGRADECIMENTOS

A Deus, toda a minha gratidão, pois Seu Amor é infinito e me salva todos os dias.

À Profª Drª. Cecilia Veronica Nunez pelos ensinamentos e direcionamentos, pelas tardes de café e por todos os momentos felizes nas confraternizações do laboratório. Obrigada pelas inúmeras contribuições, por partilhar seus conhecimentos de maneira tão natural e por confiar em mim na realização desta pesquisa.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia (LABB), em especial à turma da qual tive o privilégio de fazer parte, a turma dos endofíticos: Dr. Weison por ter me auxiliado desde o processo seletivo de Mestrado do PPGBIOTEC, até a execução das atividades de bancada, agradeço muito por todo o apoio e pelos momentos de descontração com os colegas. À Mª Kalynne, minha irmã endofítica, por todos os conhecimentos compartilhados, por toda a ajuda oferecida, pois suas dicas são valiosas, e pelas conversas de garota nos tempos livres. Ao Dr. Andrei, por todo o suporte, por sanar minhas dúvidas por mais bobas que elas fossem, e por ser uma pessoa muito divertida e engraçada. À Kathiane, minha irmã endofítica e de Mestrado, por toda a parceria e pelo apoio que oferecemos uma à outra durante essa fase, obrigada pelos momentos alegres que compartilhamos nessa jornada. Ao Dr. David, por toda a paciência e ajuda nas atividades mais simples, até as mais complexas, como as análises dos espectros de RMN, e também muito obrigada pelas tardes de vôlei com o resto da turma. Às meninas, Carina, Marcela e Patrícia, pela companhia, pelas gargalhadas compartilhadas e pelas trufas de castanha da Marcela. A todos do LABB: Allana, Andreia, Daiane, Fábio, Gabriel, Gabi, Isabel, Láisley, Lesliê, Luana, Luciano, Manu, Michele, Priscila e Rozi.

À minha família, por ser meu alicerce, meu porto seguro. Meus avós, Carmosina e Pedro, muito obrigada pelo amor incondicional, por todo o zelo, por todos os ensinamentos e pelas comidas deliciosíssimas que só vocês conseguem preparar. À minha bisavó, Francisca, por ser um ser humano de muito amor e luz. Às minhas tias e tios, às minhas primas, vocês têm todo o meu amor. À minha avó Maria das Graças e à minha tia Kassia por todo o amor que compartilhamos em vida e que transcende as barreiras do mundo material. Vocês foram mulheres muito guerreiras e são minha principal referência de força e perseverança.

Aos meus pais, por todo o amor, por todo o apoio, por todas as correções e por estarem presentes em todos os momentos da minha vida. Muito obrigada por sempre me encorajarem a buscar meus objetivos e por me ajudarem em tudo, ainda espero um dia retribuir tudo o que vocês fizeram e fazem por mim até hoje.

Às amigas que me acompanham desde a escola: Ana, Angel, Arty, Hanna e Jadge. Muito obrigada pela amizade de vocês, que já dura há mais de 10 anos, a companhia de vocês me faz muito feliz.

À Ana Gabrielle, minha irmã de vidas passadas, pela amizade, pelo apoio, pelas palavras e por todos os momentos que passamos juntas. Muito obrigada pelas tardes de milkshake com a sua avó e pelos momentos adoráveis com os seus amigos e com os seus pais. Seu Ademir tem muito orgulho de você, assim como eu tenho também.

Ao Leonardo Tiago, por ser meu companheiro, meu amado, meu namorado. Obrigada pela paciência, pela cumplicidade e por tudo o que vivemos e viveremos. *Você me faz correr atrás do horizonte dessa highway.*

Ao excelente corpo docente do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), em especial à Profª Sonia Maria da Silva Carvalho, por ter despertado em mim o apreço pelos fungos e por ter aceitado ser minha orientadora de Estágio Supervisionado, durante a graduação, e de Estágio Docência, durante o Mestrado. Aos amigos que fiz durante a graduação em Biotecnologia, os carinhosamente denominados “biotecos”: Beatriz Magnani, Gabriel Coutinho, Ignácio Benites, Joyce Marinho, Karine Moraes, Livia Takahashi, Thayssa Souza e Samir Souto. Muito obrigada por ainda permanecerem em minha vida e por sempre nos encontrarmos na mesma data do mês de junho.

Ao Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (LFBV - INPA), onde iniciei minha jornada como estudante de IC (PIBIC). Agradeço ao Profº Dr. José Francisco de Carvalho Gonçalves e à Profª Drª. Andreia Varmes Fernandes pela orientação e por todos os ensinamentos que adquiri enquanto estudante do laboratório. À Drª. Josiane Celerino de Carvalho pela co-orientação, pela parceria e por todos os conhecimentos que compartilhamos. Agradeço às colegas Katharine Gonçalves e Yasmin Kramer por todo o apoio, pela companhia e pelos momentos de descontração. Todos vocês contribuíram para minha formação acadêmica, científica e profissional, e, por isso, sou muito grata.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), por ser o lugar onde iniciei minha jornada na pesquisa como PIBIC e por hoje ser o lugar onde executei todas as etapas do Mestrado.

Aos técnicos da Central Analítica do INPA, por todo o profissionalismo na execução das análises de RMN e espectrometria de massas.

Aos profissionais da FIOCRUZ, que realizaram as análises de identificação molecular do fungo endofítico selecionado, e aos profissionais do Laboratório de Química Aplicada à Tecnologia da EST/UEA, que realizaram a identificação morfológica.

À UFAM, onde me formei biotecnóloga, e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, pela oportunidade de realizar o Mestrado.

À FAPEAM, pela concessão da bolsa, CNPq e CAPES pelo suporte à pesquisa.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Time passes, people move

Like a river's flow, it never ends

A childish mind will turn to noble ambition

Young love will become deep affection

The clear water's surface reflects growth

The Legend of Zelda: Ocarina of Time

RESUMO

Os fungos endofíticos isolados de plantas do gênero *Palicourea* são fontes de moléculas bioativas, com aplicabilidades biotecnológicas. Com o surgimento de novas patologias e a problemática da resistência microbiana aos fármacos convencionais, há a necessidade do desenvolvimento de novos medicamentos. Tendo em vista esse contexto, este estudo averiguou a composição química e as atividades antibacteriana e de toxicidade frente à *Artemia salina* de fungos endofíticos isolados de folhas de *Palicourea prancei*, visando a obtenção de substâncias ativas. Os fungos endofíticos de *P. prancei* foram cultivados em caldo Sabouraud (0,2% de extrato de levedura) em incubadora *shaker* (30 °C, 120 rpm) durante 20 dias para a obtenção da massa micelial. Os metabólitos dos micélios foram extraídos em solvente metanol (MeOH) e concentrados em evaporador rotatório para aquisição dos extratos brutos. O perfil químico dos extratos brutos foi analisado por cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC). Avaliou-se a atividade de inibição bacteriana dos extratos fúngicos pelo método de microdiluição em caldo e o nível de toxicidade frente à *A. salina*. O fungo selecionado foi cultivado em escala ampliada e seus micélios foram extraídos com MeOH, cujo extrato foi submetido à partição utilizando AcOEt, obtendo-se a fase AcOEt e a fase hidrometanólica. O extrato e as fases obtidas tiveram seu perfil químico analisado por CCDC. Apenas o extrato MeOH e sua fase AcOEt foram analisados por RMN ¹H e submetidos aos testes antibacteriano e de toxicidade frente à *A. salina*. Os maiores valores de massa do extrato MeOH micelial foram apresentados pelos fungos G1 PP8 (738,8 mg), G4 PP11 (456,0 mg) e G6 PP7 (440,2 mg). A partir das análises de CCDC, os extratos brutos dos fungos endofíticos de *P. prancei* demonstraram indícios de substâncias com ligações duplas, indícios de terpenos, substâncias fenólicas e nitrogenadas. Os extratos MeOH dos fungos G1 PP8 e G2 PP5 testados à 1000 µg/mL apresentaram atividade bacteriostática acima de 35% contra as bactérias *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus*, e o extrato MeOH de G1 PP8 exibiu alta toxicidade contra *A. salina*, com CL₅₀ = 2,76 µg/mL. O fungo G1 PP8 destacou-se nas análises e foi selecionado para o cultivo em escala ampliada e identificação molecular, sendo identificado como *Xylaria cubensis* G1 PP8. A fase AcOEt do extrato MeOH dos micélios de *X. cubensis* G1 PP8 foi fracionada por cromatografia em coluna aberta (CCA), permitindo o isolamento da citocalasina D. O extrato MeOH e sua fase AcOEt não apresentaram atividade antibacteriana, mas mostraram-se tóxicos no ensaio contra *A. salina*, com CL₅₀ = 84,02 µg/mL (extrato MeOH) e 144,3 µg/mL (fase AcOEt). Os resultados obtidos neste estudo contribuem para o conhecimento químico dos fungos endofíticos de *P. prancei*, bem como suas aplicabilidades biológicas.

Palavras-chave: Bioprospecção, Citocalasina, Metabólitos secundários, *Palicourea prancei*, *Xylaria cubensis*.

ABSTRACT

Endophytic fungi isolated from plants of the genus *Palicourea* are sources of bioactive molecules with biotechnological applications. With the emergence of new pathologies and the issue of microbial resistance to conventional drugs, there is a need for the development of new medicines. In view of this context, this study analyzed the chemical composition as well as the antibacterial and toxicity activities against *Artemia salina* of endophytic fungi isolated from *Palicourea prancei* leaves, aiming at obtaining active substances. The endophytic fungi of *P. prancei* were cultivated in Sabouraud broth (0.2% yeast extract) in a shaker incubator (30 °C, 120 rpm) for 20 days to obtain the mycelial mass. The metabolites of the mycelia were extracted in methanol (MeOH) solvent and concentrated in a rotary evaporator to obtain the crude extracts. The chemical profile of the crude extracts was analyzed by comparative thin layer chromatography (TLC). The bacterial inhibition activity of the fungal extracts was evaluated by the microdilution method and the toxicity level against *A. salina*. The selected fungus was cultivated on a large scale and its mycelia were extracted in MeOH, which was partitioned using EtOAc, obtaining the EtOAc phase and the hydromethanolic phase. The extract and the phases obtained had their chemical profile analyzed by comparative TLC. Only the MeOH extract and its EtOAc phase were analyzed by ¹H NMR and subjected to antibacterial and toxicity tests against *A. salina*. Comparative TLC analysis of crude extracts from endophytic fungi of *P. prancei* indicated the presence of substances with double bonds, terpenes, phenolic compounds, and nitrogenous compounds. The MeOH extracts of the fungi G1 PP8 and G2 PP5 tested at 1000 µg/mL showed bacteriostatic activity above 35% against the bacteria *Aeromonas hydrophila* and *Staphylococcus aureus*, and the MeOH extract of G1 PP8 exhibited high toxicity against *A. salina*, with LC₅₀ = 2.76 µg/mL. The fungus G1 PP8 stood out in the analyses and was selected for large-scale cultivation and molecular identification, being identified as *Xylaria cubensis* G1 PP8. The EtOAc phase of the MeOH extract of *X. cubensis* G1 PP8 mycelium was fractionated by open column chromatography (CC), allowing for the isolation of cytochalasin D. The MeOH extract and its EtOAc phase did not show antibacterial activity, but were toxic in the assay against *A. salina*, with LC₅₀ = 84.02 µg/mL (MeOH extract) and 144.3 µg/mL (EtOAc phase). The results obtained in this study contribute to the chemical knowledge of the endophytic fungi of *P. prancei*, as well as their biological applicability.

Keywords: Bioprospecting, Cytochalasin, Secondary metabolites, *Palicourea prancei*, *Xylaria cubensis*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1. Fungos endofíticos	17
2.2. Metabólitos secundários de fungos endofíticos de interesse biotecnológico	18
2.3. O gênero <i>Xylaria</i>	23
2.4. Família Rubiaceae Juss.	28
2.5. Gênero <i>Palicourea</i> (Rubiaceae)	31
2.6. Espécie <i>Palicourea prancei</i> (Steyerm.)	36
2.7. Bactérias patogênicas e resistência antimicrobiana	37
2.8. <i>Artemia salina</i> L.: ensaio de toxicidade frente ao crustáceo	44
3. OBJETIVOS	45
3.1. Objetivo geral	45
3.2. Objetivos específicos	45
4. MATERIAL E MÉTODOS	45
4.1. Coleta e desinfestação do material vegetal para isolamento dos fungos endofíticos	45
4.2. Reativação dos fungos endofíticos	46
4.3. Avaliação preliminar dos metabólitos dos fungos endofíticos de <i>Palicourea prancei</i>	47
4.3.1. Cultivo submerso em pequena escala dos fungos endofíticos e extração dos metabólitos dos micélios	47
4.3.2. Análise cromatográfica dos extratos fúngicos	48
4.4. Identificação do fungo endofítico <i>Xylaria cubensis</i> G1 PP8	48
4.5. Avaliação química dos metabólitos do fungo endofítico <i>Xylaria cubensis</i> G1 PP8	49
4.5.1. Cultivo submerso em escala ampliada e extração dos metabólitos dos micélios	49
4.5.2. Partição líquido-líquido do extrato MeOH do micélio de <i>X. cubensis</i> G1 PP8	50
4.5.3. Fracionamento da fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de <i>X. cubensis</i> G1 PP8	51
4.6. Identificação estrutural da substância isolada	53
4.6.1. Ressonância magnética nuclear (RMN)	53
4.6.2. Espectrometria de massas (EM)	54
4.7. Ensaio biológicos	54
4.7.1. Ensaio de atividade antibacteriana	54

4.7.2.	Ensaio de toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	55
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1.	Reativação dos fungos endofíticos	56
5.2.	Avaliação preliminar dos metabólitos dos fungos endofíticos de <i>Palicourea prancei</i>	60
5.2.1.	Rendimento dos extratos fúngicos	60
5.2.2.	Análise cromatográfica dos extratos fúngicos	61
5.3.	Ensaio biológicos preliminares dos extratos fúngicos de <i>Palicourea prancei</i>	64
5.3.1.	Ensaio de atividade antibacteriana	64
5.3.2.	Ensaio de toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	66
5.4.	Identificação do fungo endofítico <i>Xylaria cubensis</i> G1 PP8	67
5.5.	Avaliação química dos metabólitos do fungo endofítico <i>Xylaria cubensis</i> G1 PP8	69
5.5.1.	Rendimento do extrato MeOH e fase AcOEt do extrato MeOH	69
5.5.2.	Análise química do extrato MeOH e fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de <i>X. cubensis</i> G1 PP8	70
5.5.3.	Análise química das frações oriundas do fracionamento da fase AcOEt do extrato MeOH	76
5.6.	Identificação estrutural da substância isolada	77
5.7.	Ensaio biológicos do extrato MeOH e fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de <i>X. cubensis</i> G1 PP8	97
5.7.1.	Ensaio de atividade antibacteriana	97
5.7.2.	Ensaio de toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	99
6.	CONCLUSÕES	101
7.	REFERÊNCIAS	102

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt – Acetato de etila
BDA – Batata dextrose ágar
BOD – *Biochemical Oxygen Demand* (demanda bioquímica de oxigênio)
CCA – Cromatografia em coluna aberta
CCDC – Cromatografia em camada delgada comparativa
CL₅₀ – Concentração letal de 50% dos indivíduos
Ø – Diâmetro
d – Duplete
DCM – Diclorometano
DMSO – Dimetilsulfóxido
DMSO-*d*₆ – Dimetilsulfóxido deuterado
h – Altura
HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*
HSQC – *Heteronuclear Single Quantum Coherence*
Hz – Hertz
J – Constante de acoplamento
MeOH – Metanol
nm – nanômetro
ppm - Partes por milhão
RMN – Ressonância magnética nuclear
rpm – Rotações por minuto
SB – Ágar Sabouraud
SBL – Sabouraud dextrose caldo e extrato de levedura
s – Singleto
t – Tripleto
UFC – Unidade de formação de colônia
UV – Ultravioleta

LISTA DE FÓRMULAS

AlCl₃ – Cloreto de alumínio
Al₂O₃ – Alumina
CDCl₃ – Clorofórmio deuterado
Ce(SO₄)₂ – Sulfato cérico
FeCl₃ – Cloreto férrico
SiO₂ – Sílica

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química das substâncias penicilina e taxol	19
Figura 2 - Características dos macrofungos de <i>Xylaria</i> (dedo de defunto), representados pelas espécies <i>X. polymorpha</i> (A), <i>X. hypoxylon</i> (B), <i>X. magnoliae</i> (C) e <i>X. longipes</i> (D)	23
Figura 3 - Distribuição geográfica da família Rubiaceae Juss.	28
Figura 4 - Estrutura química dos metabólitos encontrados em Rubiaceae	31
Figura 5 - Ocorrência da espécie <i>Palicourea prancei</i> em território brasileiro, suas características morfológicas e botânicas	37
Figura 6 - Ilustração dos processos de desinfestação, isolamento, purificação e conservação dos fungos endofíticos isolados de <i>P. prancei</i>	46
Figura 7 - Fluxograma do cultivo submerso em caldo Sabouraud (SBL) dos fungos endofíticos de <i>P. prancei</i> para obtenção dos extratos MeOH	48
Figura 8 - Fluxograma do cultivo em escala ampliada do fungo <i>X. cubensis</i> G1 PP8 para obtenção do extrato MeOH do micélio e sua fase AcOEt	50
Figura 9 - Etapas do processo de partição líquido-líquido do extrato MeOH do micélio de <i>X. cubensis</i> G1 PP8	51
Figura 10 - Fluxograma do fracionamento da fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de <i>X. cubensis</i> G1 PP8	52
Figura 11 - Cromatoplasmas dos extratos MeOH dos micélios de 12 fungos endofíticos isolados de <i>P. prancei</i>	63
Figura 12 - Características macroscópicas do fungo endofítico <i>Xylaria cubensis</i> G1 PP8, isolado da hospedeira <i>P. prancei</i>	68
Figura 13 - Formação dos estromas do fungo <i>X. cubensis</i> G1 PP8	68
Figura 14 - Substâncias isoladas a partir de <i>X. cubensis</i>	69
Figura 15 - Cromatoplasmas do extrato MeOH (I) e da fase AcOEt do extrato MeOH (II) dos micélios do fungo <i>Xylaria cubensis</i> G1 PP8	72
Figura 16 - Cromatoplasmas da fase hidrometanólica do extrato MeOH dos micélios do fungo <i>Xylaria cubensis</i> G1 PP8 (eluição em fase móvel AcOEt/acetona 1:1)	73
Figura 17 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) do extrato MeOH (em azul; $\text{DMSO-}d_6$) e da fase AcOEt (em vermelho; CDCl_3) do extrato MeOH dos micélios do fungo <i>X. cubensis</i> G1 PP8	74
Figura 18 - Ampliação da região entre 5,20 a 8,40 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz) do extrato MeOH (em azul; $\text{DMSO-}d_6$) e da fase AcOEt (em vermelho; CDCl_3) dos micélios do fungo <i>X. cubensis</i> G1 PP8	75
Figura 19 - CCDC das frações F17-20, eluídas em fase móvel DCM/MeOH 98:2	76
Figura 20 - Aspecto das frações F18, F19 e F20 após secagem	76
Figura 21 - CCDC das frações F5 e F6-7, eluídas em fase móvel DCM/MeOH 95:5	77
Figura 22 - Aspecto dos cristais brancos das frações F5 e F6-7	77

Figura 23 - Estrutura química da substância 1, identificada como citocalasina D. Posição dos átomos de C e H (A) e deslocamentos químicos referentes aos C e H (B) conforme informações obtidas nos espectros uni e bidimensionais de RMN	79
Figura 24 - Espectro de massas de alta resolução (ESI+) da citocalasina D	80
Figura 25 - Espectro de RMN de ^1H da citocalasina D nas frações F5 (vermelho) e F6-7 (azul) (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)	85
Figura 26 - Ampliação da região entre 0,2 e 2,9 ppm do espectro RMN de ^1H da citocalasina D nas frações F5 (vermelho) e F6-7 (azul) (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)	86
Figura 27 - Ampliação da região entre 2,9 e 5,7 ppm do espectro de RMN de ^1H da citocalasina D nas frações F5 (vermelho) e F6-7 (azul) (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)	87
Figura 28 - Ampliação da região entre 5,7 e 9,0 ppm do espectro de RMN de ^1H da citocalasina D nas frações F5 (vermelho) e F6-7 (azul) (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)	88
Figura 29 - Espectro de RMN de ^{13}C da citocalasina D (^{13}C , 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)	89
Figura 30 - Mapa de correlação HSQC da citocalasina D (^1H : 300 MHz, ^{13}C , 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)	90
Figura 31 - Ampliação do mapa de correlação HSQC da citocalasina D (^1H , 300 MHz, ^{13}C , 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)	91
Figura 32 - Mapa de correlação COSY da citocalasina D (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)	92
Figura 33 - Mapa de correlação COSY da citocalasina D (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) e suas respectivas correlações	93
Figura 34 - Mapa de correlação HMBC da citocalasina D (^1H , 300 MHz, ^{13}C : 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)	94
Figura 35 - Ampliação do mapa de correlação HMBC da citocalasina D (^1H , 300 MHz; ^{13}C , 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)	95
Figura 36 - Ampliação do mapa de correlação HMBC da citocalasina D (^1H , 300 MHz; ^{13}C , 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Substâncias isoladas de fungos endofíticos oriundos de plantas medicinais e suas respectivas atividades biológicas	21
Tabela 2 - Metabólitos isolados em <i>Xylaria</i> e suas respectivas classes e atividades biológicas	23
Tabela 3 - Substâncias presentes em espécies de <i>Palicourea</i> e em seus fungos endofíticos	34
Tabela 4 - Bactérias patogênicas de alto nível de mortalidade e suas respectivas patologias e resistências	40
Tabela 5 - Relação das amostras enviadas para análises de RMN e suas respectivas massas, solventes utilizados para solubilização e os tipos de análises empregadas	54
Tabela 6 - Cepas de bactérias patogênicas testadas no ensaio antibacteriano frente aos extratos fúngicos de <i>P. prancei</i>	55
Tabela 7 - Características macroscópicas dos fungos endofíticos reativados a partir da planta <i>P. prancei</i>	56
Tabela 8 - Classificação dos fungos endofíticos de <i>P. prancei</i>	59
Tabela 9 - Relação das massas miceliais, dos extratos MeOH e seus respectivos rendimentos	61
Tabela 10 - Classes químicas dos extratos MeOH dos micélios de fungos endofíticos de <i>P. prancei</i>	62
Tabela 11 - Porcentagem de inibição do crescimento bacteriano diante dos extratos miceliais a 1000 µg/mL	65
Tabela 12 - Porcentagem de mortalidade dos indivíduos de <i>A. salina</i> frente aos extratos de fungos endofíticos de <i>P. prancei</i>	66
Tabela 13 - Mortalidade dos indivíduos de <i>A. salina</i> frente a diferentes concentrações do extrato MeOH do fungo G1 PP8	67
Tabela 14 - Relação das massas dos extratos MeOH e fases obtidas a partir do extrato MeOH do cultivo em escala ampliada (2º cultivo) do fungo <i>X. cubensis</i> G1 PP8 e seus respectivos rendimentos	70
Tabela 15 - Classes químicas dos extratos MeOH, fase AcOEt e hidrometanólica do extrato MeOH dos micélios de <i>X. cubensis</i> G1 PP8	73
Tabela 16 - Dados de RMN de ¹ H, ¹³ C HMBC e COSY da citocalasina D (em DMSO- <i>d</i> ₆ : 300 MHz (1H), 75 MHz (¹³ C)) e comparação com a literatura (em DMSO- <i>d</i> ₆ : 500 MHz (¹ H), 125 MHz (¹³ C))	81
Tabela 17 - Porcentagem de inibição dos extratos MeOH dos cultivos em pequena escala (1º) e em escala ampliada (2º) e da fase AcOEt do extrato MeOH (2º) dos micélios de <i>X. cubensis</i> G1 PP8 contra <i>Aeromonas hydrophila</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em testes realizados	99
Tabela 18 - Porcentagem de mortalidade e CL ₅₀ dos extratos MeOH dos cultivos em pequena escala (1º) e em escala ampliada (2º) e da fase AcOEt do extrato MeOH (2º) dos micélios de <i>X. cubensis</i> G1 PP8 contra <i>A. salina</i>	100

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 - Sistemas de eluição utilizados para o fracionamento da fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de *X. cubensis* G1 PP8 e as respectivas frações coletadas de cada sistema 52
- Quadro 2 - Sistemas de eluição utilizados para o fracionamento da mistura de frações F17-20 e as respectivas frações coletadas de cada sistema 53
- Quadro 3 - Níveis de toxicidade baseados no percentual de mortalidade dos náuplios de *A. salina* para testes em concentrações de 1000 e 500 µg/mL 56

1. INTRODUÇÃO

O surgimento de novas doenças e o cenário de superresistência de microrganismos patogênicos aos fármacos convencionais incentivam a busca por substâncias com propriedades terapêuticas. Nesse contexto, os produtos naturais são matérias-primas para o desenvolvimento de novos medicamentos, podendo ser encontrados em organismos vivos como plantas, animais e microrganismos (Bernardes *et al.*, 2017). Dentre eles, os fungos endofíticos são uma fonte rica de metabólitos secundários e com potencial terapêutico, servindo como uma alternativa mais ecológica, rápida, economicamente viável e com maior controle produtivo, quando comparados aos outros organismos, cuja exploração exacerbada pode levar à extinção de suas espécies (Gupta *et al.*, 2020).

A biodiversidade amazônica é muito explorada no âmbito da bioprospecção de moléculas ativas, por conta da ocorrência de inúmeras espécies vegetais com propriedades farmacológicas e biológicas nesse ecossistema (Coradin *et al.*, 2022). Estudos mostram que os endófitos provenientes de plantas tropicais tendem a produzir uma alta quantidade de metabólitos secundários, e por isso há grande interesse em investigar a microbiota endofítica de plantas medicinais da Amazônia (Bills *et al.*, 2002; Ferreira *et al.*, 2021; Pereira *et al.*, 2017). A exemplo, plantas da espécie *Copaifera* spp. (copaíba), oriundas de florestas tropicais e produtoras de oleoresinas de vasta ação terapêutica, são detentoras de uma ampla variedade de fungos endofíticos, cujos extratos demonstram ação antibacteriana contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Carvalho *et al.*, 2021).

O gênero *Palicourea* Aubl. apresenta grande complexidade química de substâncias (Santivañez; Angolini, 2024), sendo representado por plantas medicinais e também por plantas tóxicas capazes de acumular monofluoroacetato (MFA), uma substância responsável por causar falência cardíaca em gados (Riet-Correa *et al.*, 2023; Ubiali *et al.*, 2020). Na literatura, há indícios da ação biológica dos endófitos de *Palicourea*, em que extratos de fungos endofíticos isolados de *Palicourea rigida* apresentaram atividade antioxidante, antimicrobiana e de toxicidade frente à *Artemia salina* (Santos *et al.*, 2021). Também já foi reportado o isolamento da molécula com propriedades antimicóticas conhecida como griseofulvina (18), tendo sido isolada do fungo endofítico *Arthrinium* sp. (hospedeira: *Palicourea solitudinum*) (Hinterdobler; Schinnerl, 2019).

Palicourea prancei, que se encontra distribuída ao longo da Reserva Adolpho Ducke (Kinupp, 2002), é uma planta amazônica com escassez de dados fitoquímicos e de estudos acerca de sua microbiota endofítica. O seu uso em trabalhos de bioprospecção se torna relevante para investigar as propriedades químicas das comunidades endofíticas presentes em

suas folhas, tendo em vista a complexidade química das espécies de *Palicourea*. Assim, a presente pesquisa averiguou a composição química e a atividade biológica de fungos endofíticos isolados de folhas de *P. prancei*, visando selecionar e identificar o fungo endofítico de maior destaque e obter substâncias ativas de interesse biotecnológico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Fungos endofíticos

Os fungos endofíticos são microrganismos que coabitam o interior dos tecidos vegetais, capazes de participar do ciclo de vida de sua planta hospedeira sem causar malefícios aparentes, em uma relação de equilíbrio simbiótico (Stone *et al.*, 2004; Verma *et al.*, 2012). A definição do termo “endofítico” foi cunhada primeiramente por De Bary (1866, *apud* Petrini, 1991, p. 179), que conceitua os endófitos como “todos os organismos que colonizam o tecido interno das plantas”. Ao longo dos séculos, essa definição sofreu modificações, com a contribuição de Carroll (1988, p. 5), que adicionou que os endófitos são um grupo de organismos assintomáticos às hospedeiras, e que não inclui seres patogênicos ou mutualistas, como as micorrizas.

Petrini (1991, p. 179) estabeleceu que os endófitos são “todos os organismos que habitam os órgãos das plantas, sendo capazes de colonizar os tecidos internos das plantas em determinado momento do seu ciclo de vida, sem causar danos aparentes à hospedeira”. Desse modo, a depender de condições ambientais favoráveis, fungos epifíticos - organismos que habitam a superfície dos tecidos vegetais - podem assumir características endofíticas, assim como fungos patogênicos podem interagir com suas hospedeiras de modo assintomático durante seu ciclo vital (Petrini, 1991).

A colonização endofítica segue etapas semelhantes à infecção patogênica, envolvendo o reconhecimento do microrganismo pela hospedeira, a germinação do endófito e a penetração nos tecidos vegetais (Kogel *et al.*, 2006; Sieber, 2007; Yan *et al.*, 2019). Essa colonização ocorre com auxílio das hifas ou dos esporos, que se aderem à superfície das folhas, caule ou raízes, permitindo que os endófitos adentrem as células a partir de poros naturais da camada epidermal, ou pela síntese de enzimas degradadoras da parede celular vegetal (celulases, proteases e liases), que facilitam o acesso dos microrganismos ao espaço inter ou intracelular da planta (Ji *et al.*, 2022; Verma *et al.*, 2012).

Os fungos endofíticos podem ser transmitidos em dois processos (Yan *et al.*, 2019), sendo eles a) transmissão vertical: a comunidade de fungos endofíticos da “planta-mãe” é repassada para as futuras gerações, uma vez que estes microrganismos estão alojados nas

sementes, e por isso são facilmente transmitidos para as proles; b) transmissão horizontal: os fungos endofíticos adentram a planta-hospedeira através dos poros naturais, como os estômatos, hidatódios, e também por mecanismos bióticos (herbívoros ou insetos) ou mecanismos abióticos (ventania, chuva ou ar).

É importante destacar que o estabelecimento da relação simbiótica entre os fungos e suas hospedeiras depende de mecanismos complexos de mediações bioquímicas e moleculares, onde o microrganismo se adapta às respostas do sistema de defesa das plantas, que inibem a virulência fúngica em certo nível (Ji *et al.*, 2022; Kogel *et al.*, 2006; Yan *et al.*, 2019).

Seguindo esse pressuposto, conforme estudos de Wawra *et al.* (2016, p. 5), demonstrou-se que o endófito *Piriformospora indica* contém genes capazes de modificar as propriedades de sua parede celular, a fim de que padrões moleculares associados a microrganismos (MAMPs), como o β -glucano, sejam suprimidos a ponto de não serem reconhecidos pelo sistema imune dos hospedeiros, de modo a favorecer a sobrevivência do microrganismo. Assim, a relação endófito-hospedeira pode ser descrita como um equilíbrio/balanço simbiótico contínuo, que abrange o mutualismo, o comensalismo e o parasitismo, sofrendo influência direta dos fatores endógenos (metabólitos secundários) e exógenos (condições ambientais) da planta, uma vez que, em dadas circunstâncias, o endofitismo pode alternar para patogenia, e vice-versa (Aly *et al.*, 2011; Kogel *et al.*, 2006).

Plantas superiores possuem uma complexa dinâmica no ecossistema onde estão inseridas, e para sobreviver às intempéries de seus habitats, estes seres detêm um sistema heterogêneo de adaptação, incluindo processos de simbiose com a microbiota fúngica vivente em seus tecidos (Omoarelojie; van Staden, 2020; Yan *et al.*, 2019). Há indícios de que esses microrganismos contribuem na síntese de moléculas bioativas importantes para o metabolismo de suas plantas hospedeiras (Yan *et al.*, 2019), além de serem coadjuvantes na produção de fitohormônios que atuam no crescimento vegetal (Fadiji; Babalola, 2020), na aquisição de nutrientes (Gong *et al.*, 2020), na resistência contra a herbivoria (Ambele *et al.*, 2020) e contra os estresses bióticos e abióticos (Omoarelojie; van Staden, 2020; Verma *et al.*, 2016; Yan *et al.*, 2019).

2.2. Metabólitos secundários de fungos endofíticos de interesse biotecnológico

Os metabólitos secundários são moléculas complexas de baixa massa molecular, sintetizados durante um período específico do ciclo vital de um organismo, úteis para a adaptação indivíduo-ambiente e que geralmente expressam potencial terapêutico (Keller *et*

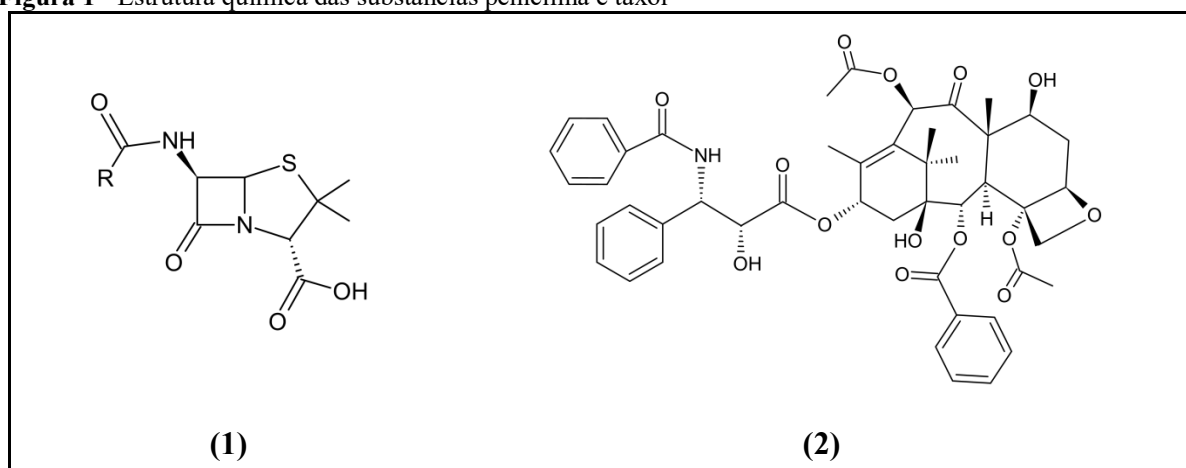
al., 2005; Kreis *et al.*, 2017). Originam-se do metabolismo primário, que é responsável pela produção de moléculas universais e necessárias para a sobrevivência de um ser vivo (aminoácidos, carboidratos, nucleotídeos, vitaminas e ácidos graxos), divergindo-se a partir de vias biossintéticas específicas (Kreis *et al.*, 2017).

Os fungos endofíticos são amplamente estudados por conta de sua importância industrial e biotecnológica para a produção de metabólitos secundários. Por conta disso, esses microrganismos têm servido como fonte de interesse para a indústria farmacêutica, cosmética, agronômica, alimentícia, entre outras áreas (Bogas *et al.*, 2022; Gupta *et al.*, 2020; Omomowo *et al.*, 2023). Desde a descoberta da penicilina (1) por Alexander Fleming (Fleming, 1929), os fungos são explorados como fonte de substâncias com ação biológica, sendo um dos grandes marcos da ciência de produtos naturais.

A investigação da síntese do paclitaxel (taxol®) (2), alcaloide diterpeno com atividade anticancerígena e de grande valor econômico para a produção de quimioterápicos, pelo fungo endofítico *Taxomyces andreanae* (hospedeira: *Taxus brevifolia*) revolucionou a ciência de produtos naturais (Adhikari *et al.*, 2023; Stierle *et al.*, 1993), pois as árvores do gênero *Taxus* eram predatoriamente exploradas para a extração do taxol e ainda geravam um baixo rendimento de produto (Adhikari *et al.*, 2023; Brandão *et al.*, 2010).

A síntese de taxol não se restringe apenas aos microrganismos hospedeiros do gênero *Taxus*, uma vez que outros endófitos também são capazes de produzi-lo, sendo eles *Alternaria brassicicola* (hospedeira: *Terminalia arjuna*) (Gill; Vasundhara, 2019), *Aspergillus oryzae* (hospedeira: *Tarenna asiatica*) (Suresh *et al.*, 2020), *Colletotrichum gloeosporioides* (hospedeira: *Justicia gendarussa*) (Gangadevi; Muthymary, 2008), *Fusarium oxysporum* (hospedeira: *Rhizophora annamalayana*) (Elavarasi *et al.*, 2012).

Figura 1 - Estrutura química das substâncias penicilina e taxol



Os estudos de metabólitos secundários de fungos endofíticos têm foco em endófitos oriundos de plantas medicinais, devido aos indícios de que esses microrganismos são capazes de sintetizar biomoléculas análogas e derivadas às suas hospedeiras (Ferreira *et al.*, 2021; Gurgel *et al.*, 2020a). A produção de metabólitos secundários por fungos está associada a *clusters* de genes que são regulados por fatores de transcrição, que respondem a alterações de pH, temperatura e de nutrição (Fox; Howlett, 2008).

A nível endófito-planta, o microrganismo produz substâncias bioativas para antagonizar o metabolismo de defesa vegetal, de modo a estabelecer uma interação assintomática a partir do equilíbrio entre a virulência fúngica e o sistema de defesa da planta (Yan *et al.*, 2018). Teoriza-se que essa interação leva a um processo de adaptação co-evolutivo, onde os endófitos desenvolvem mecanismos de resistência para a construção de uma relação mutualística, em que ambos se beneficiam. Enquanto os endófitos são beneficiados com nutrição e proteção a partir das plantas, os vegetais recebem a proteção de seus fungos endofíticos, já que esses microrganismos atuam positivamente na fisiologia vegetal, sendo capazes de produzir metabólitos que atuam na defesa contra a herbivoria, ataques de fitopatógenos, além de auxiliarem no crescimento da planta, na produção de fitohormônios e também contra os estresses bióticos e abióticos (Fadiji; Babalola, 2020; Ferreira *et al.*, 2021; Fontana *et al.*, 2021).

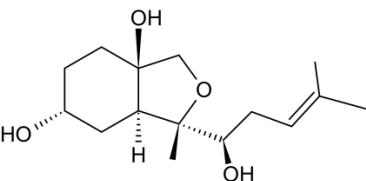
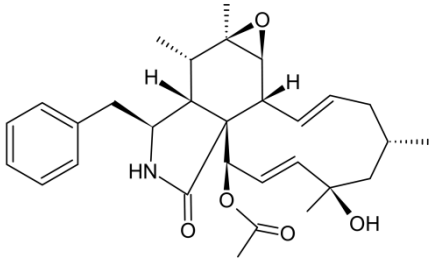
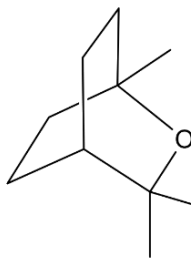
Os fungos endofíticos são considerados fonte de novos produtos naturais, por conta da síntese de diversos compostos bioativos, que compreendem substâncias como alcaloides, antraquinonas, lactonas, policetídeos, substâncias fenólicas, quinonas, terpenoides entre outras classes de biomoléculas (Rana *et al.*, 2019; Wen *et al.*, 2022; Zheng *et al.*, 2021). Essas substâncias são exploradas pelo seu potencial antioxidante, antibacteriano (Rajendran *et al.*, 2023), anticancerígeno (Suresh *et al.*, 2020), antifúngico, antiparasitário, antiviral, imunossupressor, antidiabético (Mishra *et al.*, 2013), na aquisição de pigmentos/corantes, como potenciais agentes pesticidas e herbicidas, e para processos de biotransformação (Bogas *et al.*, 2022; Gupta *et al.*, 2020; Gupta *et al.*, 2023; Omomowo *et al.*, 2023; Zheng *et al.*, 2021). Na Tabela 1, estão representados alguns exemplos de metabólitos isolados de fungos endofíticos e suas respectivas atividades biológicas.

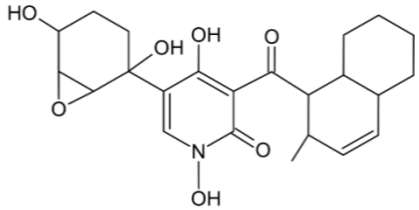
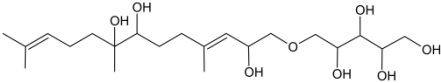
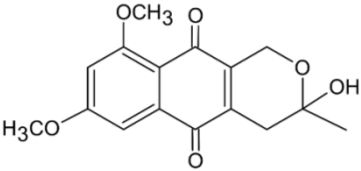
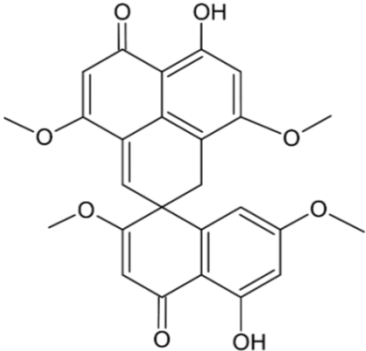
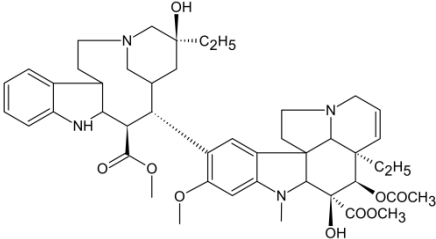
A aquisição de metabólitos produzidos por fungos endofíticos mostra-se uma alternativa mais sustentável em relação à extração de substâncias do vegetal, já que isso acarreta na exploração predatória de espécies botânicas, gerando impactos significativos ao ecossistema. Ademais, a utilização de endófitos é considerada uma prática economicamente viável, rápida, com maior controle produtivo sobre o escalonamento e rendimento, que

permite a aplicação de técnicas (e.g.: *One strain many compounds* (OSMAC)) que favoreçam a síntese de determinados metabólitos (Bogas *et al.*, 2022; Ferreira *et al.*, 2022; Wen *et al.*, 2022).

A fim de potencializar a produção de metabólitos fúngicos, a técnica de OSMAC é aplicada com o intuito de ativar vias biossintéticas silenciadas em microrganismos a partir da utilização de diferentes condições de cultivo, o que resulta na produção e descoberta de novas substâncias bioativas (Ferreira *et al.*, 2022). Além disso, a associação entre o potencial dos fungos endofíticos às ferramentas de engenharia genética fomenta o desenvolvimento de novos métodos para a produção de metabólitos secundários de interesse biotecnológico, a fim de superar as limitações da produtividade dos microrganismos em escala industrial (Gupta *et al.*, 2020; Salazar-Cerezo *et al.*, 2023).

Tabela 1 - Substâncias isoladas de fungos endofíticos oriundos de plantas medicinais e suas respectivas atividades biológicas

Substância	Fungo endofítico	Planta hospedeira	Bioatividade	Referência
 (3) coletotriquina B	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Uncaria rhynchophylla</i>	inibição da AChE (IC ₅₀ = 38 µg/mL)	Chen <i>et al.</i> (2018)
 (4) epoxicitocalasina H	<i>Diaporthe miriciae</i>	<i>Vellozia gigantea</i>	antimalárica (IC ₅₀ = 39,4 µg/mL)	Ferreira <i>et al.</i> (2017)
 (5) eucaliptol	<i>Hypoxylon anthochroum</i>	<i>Bursera lancifolia</i>	fitotóxica	Ulloa-Benítez <i>et al.</i> (2016)

Substância	Fungo endofítico	Planta hospedeira	Bioatividade	Referência
 (6) fischerina	<i>Neosartorya fischeri</i>	<i>Glehnia littoralis</i>	neuroprotetora	Bang <i>et al.</i> (2019)
 (7) fusartricina	<i>Fusarium tricinctum</i>	<i>Salicornia bigelovii</i>	antimicrobiana (MIC = 19 µM)	Zhang <i>et al.</i> (2015)
 (8) herbarina	<i>Dendryphion nanum</i>	<i>Ficus religiosa</i>	anti-inflamatória (IC ₅₀ = 0,06 µM) antidiabética (EC ₅₀ = 0,8 µM)	Mishra <i>et al.</i> (2013)
 (9) minimoidion B	<i>Sporormiella minimoides</i>	<i>Hintonia latiflora</i>	anti-hiperglicêmica (IC ₅₀ = 2,9 µM)	Rangel-Grimaldo <i>et al.</i> (2017)
 (10) vinblastina	<i>Curvularia verruculosa</i>	<i>Catharanthus roseus</i>	citotóxica (IC ₅₀ = 8,5 µg/mL)	Parthasarathy <i>et al.</i> (2020)

2.3. O gênero *Xylaria*

Xylaria Hill ex Schrank é um gênero de fungos pertencente à família Xylariaceae (filo: Ascomycota), popularmente conhecidos como “dedo de defunto”, devido às características do corpo de frutificação de algumas espécies (Figura 2). A maioria das espécies é saprófita, que decompõe madeira morta, folhas, frutos, sementes, entre outros resíduos orgânicos (Osono *et al.*, 2011; Thomas *et al.*, 2016). Em sua forma microscópica, podem ser encontrados na microbiota de insetos (Chang *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2025), frutos (Zhu *et al.*, 2024), folhas (Pan *et al.*, 2025; Wei *et al.*, 2024), do solo (Yuan *et al.*, 2025) e em ambientes aquáticos (Gong *et al.*, 2022; Udayan *et al.*, 2024).

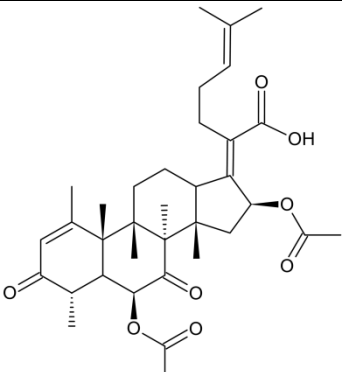
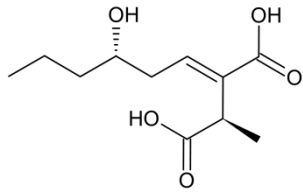
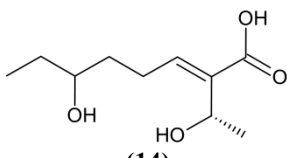
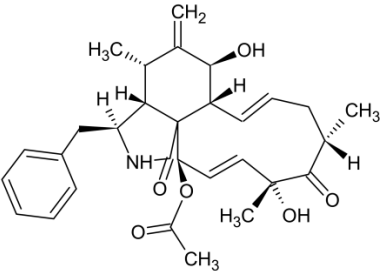
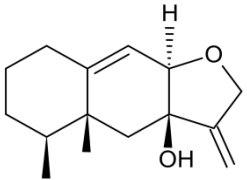
Figura 2 - Características dos macrofungos de *Xylaria* (dedo de defunto), representados pelas espécies *X. polymorpha* (A), *X. hypoxylon* (B), *X. magnoliae* (C) e *X. longipes* (D)

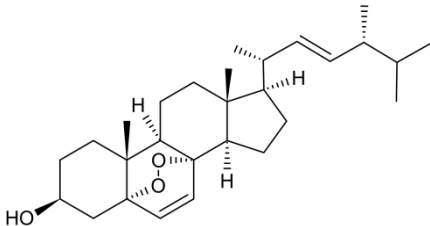
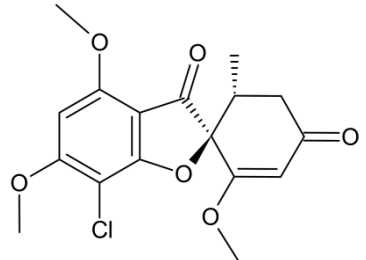
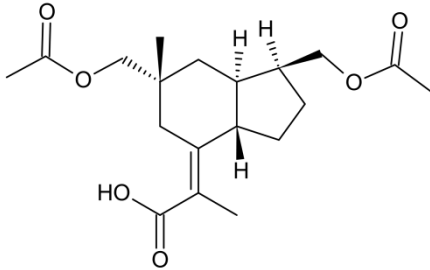
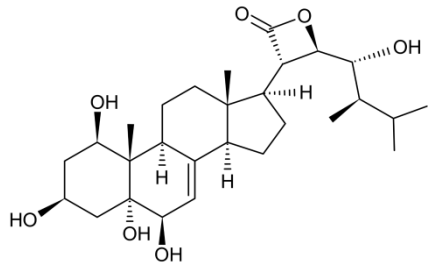


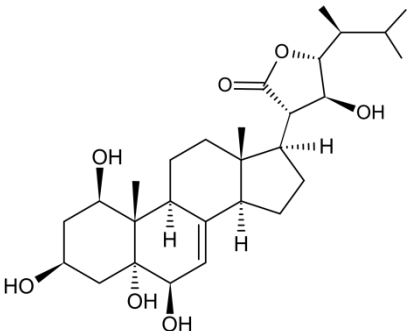
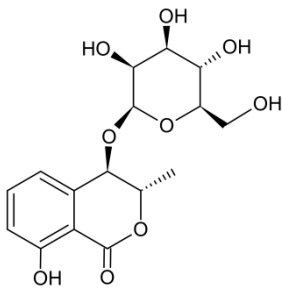
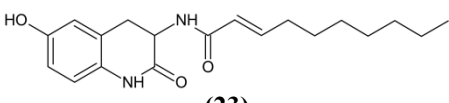
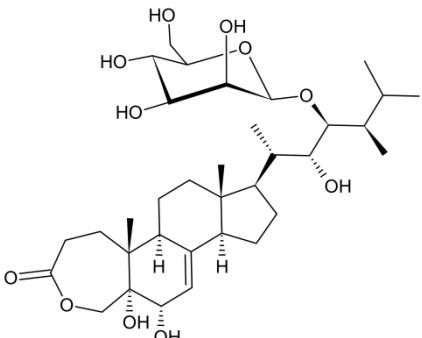
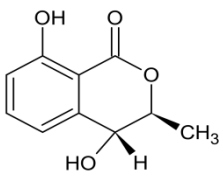
Fonte: iNaturalist (2025)

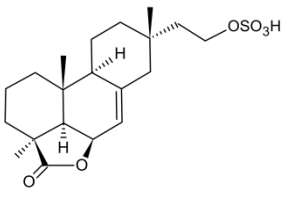
Tabela 2 - Metabólitos isolados em *Xylaria* e suas respectivas classes e atividades biológicas

Estrutura molecular	Classe química	Fungo	Bioatividade	Referência
(11) ácido intégrico	sesquiterpeno do tipo eremofilano	<i>Xylaria feejeensis</i>	antibacteriana (MIC = 16 µg/mL) (MIC = 64 µg/mL)	Rajendran <i>et al.</i> (2023)

Estrutura molecular	Classe química	Fungo	Bioatividade	Referência
 (12) ácido helvólico	terpenoide tetracíclico	<i>Xylaria cf. cubensis</i> PK108	antimalárica	Sawadsitang <i>et al.</i> , 2015
 (13) ácido xylaril A	derivado de ácido metilsuccínico	<i>X. longipes</i>	neuroprotetora	Li <i>et al.</i> , 2023
 (14) ácido xylaril D	derivado de ácido enoico	<i>X. longipes</i>	neuroprotetora	Li <i>et al.</i> (2023)
 (15) citocalasina D	alcaloide	<i>Xylaria cf. cubensis</i> PK108	citotóxica	Sawadsitang <i>et al.</i> (2015)
 (16) nigriterpeno C	sesquiterpeno do tipo eremofilano	<i>X. nigripes</i>	anti-inflamatória (iNOS IC ₅₀ = 8.1 ± 2.3 μM; COX-2 IC ₅₀ = 16.6 ± 5.5 μM)	Chang <i>et al.</i> (2017)

Estrutura molecular	Classe química	Fungo	Bioatividade	Referência
 (17) peróxido de ergosterol	esteroide do tipo ergostano	<i>Xylaria</i> cf. <i>cubensis</i> PK108	citotóxica	Sawadsitang <i>et al.</i> (2015)
 (18) griseofulvina	policetídeo	<i>Xylaria</i> sp. F0010	antifúngica	Park <i>et al.</i> (2005)
 (19) xylaribrasilaid A	sesquiterpenoide do tipo brasilano	<i>X. nigripes</i>	neuroprotetora	Long <i>et al.</i> (2025)
 (20) xylaresteroide A	esteroide (C ₂₈) com anel β -lactona	<i>Xylaria</i> sp. KYJ-15	antibacteriana (CIM = 2 μ g/mL) inibição da AChE	Gan <i>et al.</i> (2023)

Estrutura molecular	Classe química	Fungo	Bioatividade	Referência
 (21) xylaresteroide B	esteroide (C ₂₈) com anel γ -lactona	<i>Xylaria</i> sp. KYJ-15	antibacteriana (CIM = 2 μ g/mL)	Gan <i>et al.</i> (2023)
 (22) xylarglicosídeo B	glicosídeo dihidroisocumarínico	<i>Xylaria</i> sp. KYJ-15	antibacteriana (CIM = 2 μ g/mL)	Gan <i>et al.</i> (2023)
 (23) xylarinina A	alcaloide quinolínico	<i>X. longipes</i>	neuroprotetora	Liu <i>et al.</i> (2024)
 (24) xylarióxido E	ergosterol glicosídico	<i>Xylaria</i> sp. YM 311647	antifúngica (CIM = 4 μ g/mL; 8 μ g/mL)	Wang <i>et al.</i> (2022)
 (25) 3<i>S</i>,4<i>R</i>-(+)-4-hidroximeleína	isocumarina	<i>X. feejeensis</i>	inibição da α - glicosidase	Rivera-Chávez <i>et al.</i> , 2015

Estrutura molecular	Classe química	Fungo	Bioatividade	Referência
 (26) 9-deoxi-himatoxina A	diterpeno de isopimarano	<i>Xylaria</i> sp. YM 311647	antifúngica (CIM = 16 µg/mL)	Wu <i>et al.</i> , 2014

Estruturas desenhadas no software ACD/ChemSketch (Freeware) 2023.1.0

É reportado na literatura que espécies de *Xylaria* são produtoras de metabólitos bioativos (Chen *et al.*, 2024), exibindo potencial antibacteriano (Gan *et al.*, 2023; Rajendran *et al.*, 2023; Xu *et al.*, 2022), antifúngico (Elias *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2014), anti-inflamatório (Chang *et al.*, 2017), antimalárico e citotóxico (Sawadsitang *et al.*, 2015), neuroprotetor (Li *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2024; Long *et al.*, 2025), de biotransformação (Rusch *et al.*, 2018), de inibição da acetilcolinesterase (AChE) (Gan *et al.*, 2023), da α -glicosidase (Rivera-Chávez *et al.*, 2015), entre outras atividades. Na Tabela 2, estão representadas as principais moléculas encontradas em espécies de *Xylaria*, bem como suas respectivas classes e atividades biológicas.

Tendo em vista a complexidade química de seus metabólitos, espécies de *Xylaria* são investigadas quanto ao seu potencial antibacteriano, observando-se atividade promissora contra cepas resistentes (Ramesh *et al.*, 2012). Em estudo recente de Luis-Yong *et al.* (2023), extratos miceliais de *Xylaria* demonstraram inibição contra *Pseudomonas syringae* (CIM = 7,81 µg/mL), *P. syringae* pv. *tabaci* (CIM = 1,95 µg/mL) e *P. putida* (CIM = 1,95 µg/mL). O fungo endofítico *X. fejeensis* produz o metabólito ácido intégrico (11), capaz de inibir *Bacillus subtilis* (CIM = 16 µg/mL) e cepa resistente de *Staphylococcus aureus* (CIM = 64 µg/mL) (Rajendran *et al.*, 2023). Além disso, há pesquisas que mostram que espécies de *Xylaria* são capazes de produzir o antifúngico griseofulvina (18), um metabólito de grande interesse econômico para a produção de fármacos antimicóticos (Park *et al.*, 2005; Sica *et al.*, 2016).

Há muitos estudos na literatura que associam *Xylaria* a efeitos neuroprotetores pois, tradicionalmente, os macrofungos de determinadas espécies, como *X. nigripes* e *X. longipes*, são utilizados na medicina asiática para o tratamento da insônia, aumento da imunidade e da memória, servindo também para aliviar os sintomas da depressão e doenças neurodegenerativas (Deshmukh *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2024; Long *et al.*, 2025; Peng *et al.*, 2015). O estudo de Li *et al.* (2023) demonstra o efeito neuroprotetor de moléculas derivadas de ácido metil-succínico (13) e de ácido enoico (14) extraídas de *X.*

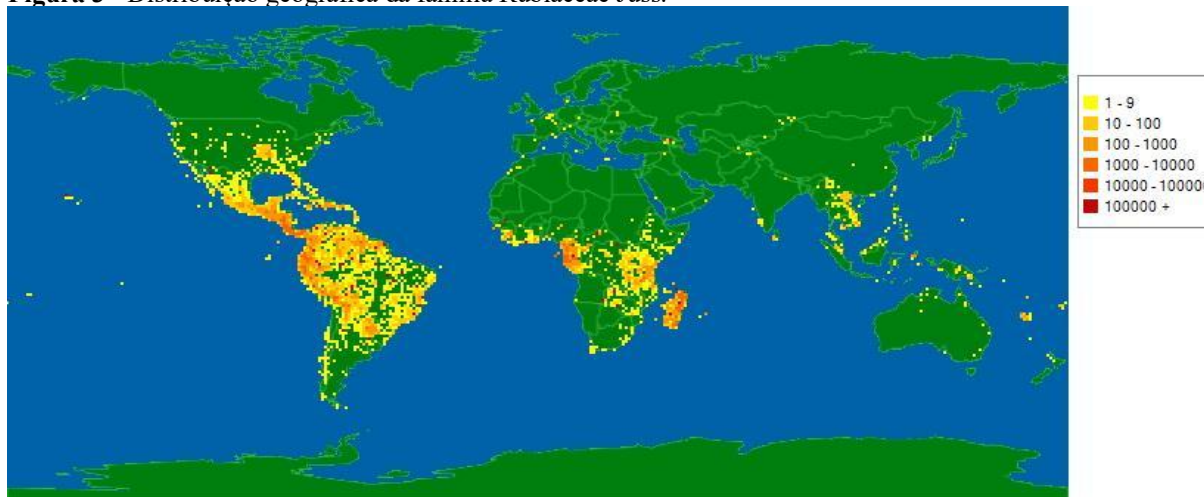
longipes, sendo capazes de inibir a apoptose e aumentar a viabilidade das células PC12 em testes de privação de oxigênio-glicose e lesão de reperfusão. Há dados que expressam a atividade neuroprotetora de sesquiterpenoides (**16** e **19**) isolados de *X. nigripes*, com potencial para reduzir o estresse oxidativo e aumentar a viabilidade celular (Chang *et al.*, 2017; Long *et al.*, 2025),

As aplicabilidades de *Xylaria* são diversas, sendo de grande interesse para o desenvolvimento de tecnologias para a saúde. No estudo de Doan *et al.*, (2023), a fim de estabelecer métodos de síntese biológica de nanopartículas de prata (AgNP) para gerar produtos dermatológicos, sintetizou-se AgNPs a partir de melanina extraída de *Xylaria* sp., as quais foram promissoras na inibição das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Cutibacterium acnes*.

2.4. Família Rubiaceae Juss.

A família Rubiaceae é considerada a quarta maior família taxonômica em número de espécies entre as Angiospermas, compreendendo aproximadamente 611 gêneros e 14.274 espécies (WFO, 2024). Suas plantas estão amplamente distribuídas geograficamente, ou seja, são seres de caráter cosmopolita, com predominância em regiões tropicais e subtropicais, conforme a Figura 3.

Figura 3 - Distribuição geográfica da família Rubiaceae Juss.



Fonte: Tropicos.org (2024).

Ao longo da América do Sul, a família Rubiaceae se adaptou em diversos biomas, mantendo-se em ambientes de clima árido e desértico, e também em regiões de alta umidade, como a Amazônia, e de altitudes elevadas, como a Cordilheira dos Andes (Delprete; Jardim, 2012). No território brasileiro, reúnem-se cerca de 130 gêneros e 1.430 espécies nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul, e nas ilhas oceânicas Fernando de Noronha e

Trindade. Desse total, em torno de 109 gêneros e 755 espécies estão concentrados na Amazônia (Flora e Funga do Brasil, 2025a).

A principal espécie representante das rubiáceas é *Coffea arabica*, conhecida popularmente como “café”, sendo um elemento de grande interesse para a economia brasileira desde o século XIX (Torres *et al.*, 2021). Deste gênero, isola-se a cafeína (27), uma substância estimulante amplamente utilizada na produção de fármacos. Outro exemplo são *Cinchona* spp., espécies de onde se extrai a quinina (28), um alcaloide com propriedades antimaláricas, utilizado como modelo para a produção de fármacos sintéticos como a cloroquina® (Boratynski *et al.*, 2019).

No Brasil, outros representantes de Rubiaceae são as espécies *Genipa americana* (jenipapo), cujas folhas e frutos são empregados na gastronomia, na produção de bebidas e para fins medicinais (Assis *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2018). Seus frutos também são explorados para a extração de corantes, tradicionalmente utilizados pelos povos indígenas na confecção de pinturas corporais (Náthia-Neves *et al.*, 2019). Os frutos de jenipapo são ricos em genipina (29), um iridoide que, na presença de oxigênio, reage com os grupos amina presentes em aminoácidos, peptídeos ou proteínas, gerando um pigmento azul escuro (Ahmed *et al.*, 2024).

Uncaria tomentosa (unha de gato) é uma espécie muito explorada pelas comunidades tradicionais da Amazônia por conta das ações terapêuticas de seus extratos vegetais no tratamento de infecções microbianas, inflamatórias e que acometem o trato gastrointestinal (Heitzman *et al.*, 2005). A partir das cascas de *U. tomentosa*, Rojas-Duran *et al.* (2012) isolou a substância mitrafilina (30) e avaliou que o composto reduz a produção de interleucinas, evidenciando um potencial anti-inflamatório.

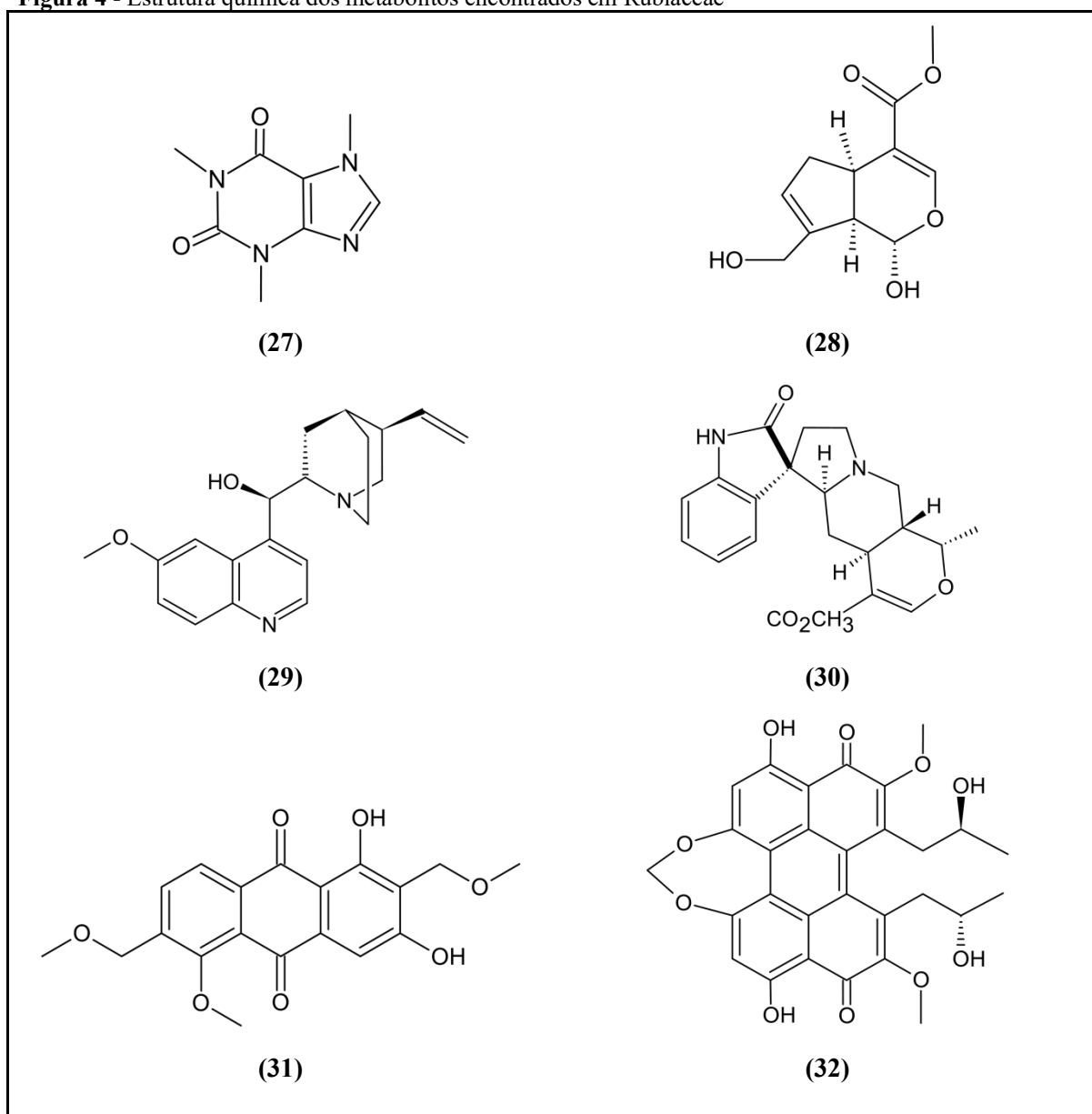
A família Rubiaceae é muito importante para os estudos ecológicos nas regiões tropicais, no que tange a comparação florística de suas espécies, uma vez que elas apresentam hábitos variados (herbáceas, arbustivas, arbóreas, lianas). Essa diversidade florística favorece a adaptabilidade e a abundância de rubiáceas presentes em inúmeros ecossistemas (Delprete; Jardim, 2012). Dessa maneira, essas plantas possuem grande valor para as comunidades tradicionais ao redor do mundo e para a etnobotânica (Heitzman *et al.* 2005; Karou *et al.*, 2011).

As plantas da família Rubiaceae são muito utilizadas pelas comunidades tradicionais, devido ao potencial terapêutico de seus extratos, e isso ocorre por conta da diversidade de substâncias bioativas presentes em suas espécies como alcaloides indólicos, antraquinonas, flavonoides, iridoides, terpenoides, entre outras classes de moléculas (Martins; Nunez, 2015).

Desse modo, é reportado na literatura que os extratos vegetais dessa família taxonômica possuem atividade antibacteriana, anticancerígena, antidiabética, anti-inflamatória, antiplasmodial, contra o estresse oxidativo e até mesmo contra doenças neurodegenerativas (Karou *et al.*, 2011).

Em estudos realizados com *Morinda citrifolia* (noni), observou-se o potencial antiviral da molécula 1,3-dihidroxi-5-metoxi-2,6-bismetoximetil-9,10-antraquinona (**31**) frente ao vírus H1N1, além da sua atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* (Wang *et al.*, 2016). Também já foi constatado em estudos realizados pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia (LABB) que os extratos vegetais das espécies *Duroia macrophylla*, *Ferdinandusa rudgeoides* e *Palicourea guianensis* possuem potencial antimicobacteriano, apresentando concentração inibitória mínima (CIM) entre 25 e 50 µg/mL contra a cepa RMP_r de *Mycobacterium tuberculosis*, associando-se essa atividade à presença de flavonoides nos extratos (Carrion *et al.*, 2013).

As plantas da família Rubiaceae detêm uma variedade de fungos endofíticos que são fontes de substâncias promissoras e de potencial biotecnológico (Cruz *et al.*, 2020). É reportado que os endófitos fúngicos presentes em *Cinchona ledgeriana* são capazes de produzir alcaloides similares à sua hospedeira, e essas substâncias são importantes para o desenvolvimento de antimaláricos (Maehara *et al.*, 2012; Maehara *et al.*, 2019). Um estudo realizado com fungos endofíticos de *Geophila repens* demonstrou que o microrganismo *Xylaria feejeensis* tem potencial para síntese de sesquiterpenoides com atividade antibacteriana (Rajendran *et al.*, 2023). A partir da espécie *Psychotria horizontalis*, isolou-se uma nova espécie de fungo endofítico do gênero *Mycosphaerella* sp., cujo extrato micelial expressou atividades biológicas promissoras e de onde se isolou a substância cercosporina (**32**), que apresentou potencial antiparasitário e citotóxico (Moreno *et al.*, 2011).

Figura 4 - Estrutura química dos metabólitos encontrados em Rubiaceae

Estruturas desenhadas no software ACD/ChemSketch (Freeware) 2023.1.0

2.5. Gênero *Palicourea* (Rubiaceae)

A aliança taxonômica Psychotrieae abrange as tribos irmãs Palicoureeae e Psychotrieae, que compreendem mais de 3.100 espécies, e seus gêneros representantes são *Palicourea*. e *Psychotria* L., respectivamente (Berger *et al.*, 2022a).

Ao longo dos séculos, os gêneros *Palicourea* e *Psychotria* foram submetidos a modificações taxonômicas em decorrência da complexidade sistemática de suas plantas (Delprete e Kirkbride Jr., 2016; Taylor, 1996). A partir de dados de filogenia molecular e evidências morfológicas, compreende-se que *Psychotria* é um gênero polifilético em que, por consequência, diversas espécies foram reorganizadas. Baseado nesse contexto, análises moleculares indicam que as espécies de *Psychotria* subg. *Heteropsychotria* formam um clado

de aproximadamente 600 espécies neotropicais com o gênero *Palicourea* (Delprete e Kirkbride Jr., 2016; Taylor *et al.*, 2010; Taylor, *et al.*, 2015; Taylor, 2019), e por isso as espécies desse subgênero foram transferidas para *Palicourea*. Devido a essas alterações, muitos metabólitos anteriormente isolados de espécies de *Psychotria* passaram a ser associados a *Palicourea*.

A tribo taxonômica Palicoureeae abrange diversos gêneros pantropicais, em que no Brasil correspondem aos gêneros *Carapichea*, *Eumachia*, *Geophila*, *Notopleura*, *Palicourea* e *Rudgea* (Berger *et al.*, 2022a; Delprete e Jardim, 2012). *Palicourea* é um gênero neotropical que abrange aproximadamente 695 espécies (POWO, 2024), de hábito arbóreo, arbustivo ou subarbusto. Os espécimes de *Palicourea* encontram-se distribuídos no México, Caribe e em países da América Central e da América do Sul (Taylor *et al.*, 2007). No Brasil, ocorre em todas as regiões do país, com cerca de 179 espécies aceitas, abrangendo os domínios fitogeográficos Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Flora e Funga do Brasil, 2025b).

Palicourea é um gênero reconhecido por plantas tóxicas, cuja ingestão causa danos à saúde e/ou óbitos em gados, trazendo prejuízos diretos e indiretos à agropecuária (Oliveira, P. *et al.*, 2018; Riet-Correa *et al.*, 2023). Isso se dá pois suas espécies tóxicas têm como característica o acúmulo de monofluoroacetato (MFA), que é uma substância altamente tóxica, responsável por causar falência cardíaca nos animais, além de lesões renais como a degeneração hidrópica das células do túbulo distal (Koether *et al.*, 2019; Ubiali *et al.*, 2020).

No Brasil, *Palicourea marcgravii*, popularmente conhecida como “cafezinho”, é a espécie de maior destaque do gênero, pois é a principal causadora de mortes em bovinos (Koether *et al.*, 2019; Oliveira, P. *et al.*, 2018; Ubiali *et al.*, 2020). Apesar da sua alta toxicidade, estuda-se o potencial biológico de *P. marcgravii*, a qual apresenta ação acaricida (Silva *et al.*, 2011), citotóxica (Alexandrino *et al.*, 2016) e inseticida (Gonzaga *et al.*, 2008; Lemes *et al.*, 2021). Vale pontuar que o extrato oleoso de *P. marcgravii* é um dos componentes utilizados na produção do formicida Bioisca® (2014), comercializado no Brasil (MAPA, 2023; Oliveira *et al.*, 2016).

As plantas de *Palicourea* são amplamente utilizadas pela medicina tradicional, sendo alternativa para o tratamento de doenças do trato respiratório, gastrointestinal e urinário, infecções inflamatórias, ISTs, hepatite, hipertensão, entre outras enfermidades (Santivañez; Angolini, 2024; Yazbek *et al.*, 2016), e por isso são alvo para estudos. No estudo de Formagio *et al.* (2022), avaliou-se que o extrato metanólico de *Palicourea tomentosa* possui ação analgésica e anti-inflamatória. O extrato metanólico, as frações alcaloídicas e os alcaloides

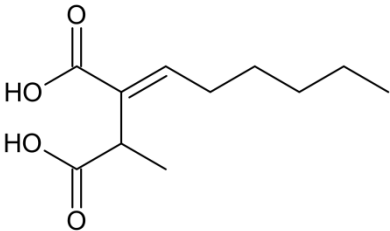
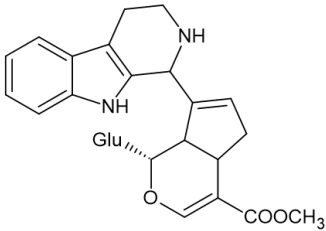
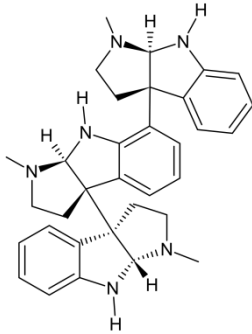
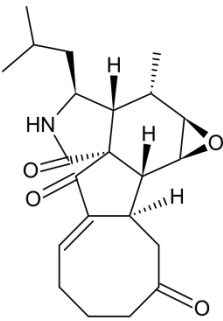
majoritários isolados de *P. minutiflora* exibem ação antiproliferativa e anti-inflamatória (Moura *et al.*, 2020). *Pal. apoda* (sinônimo: *Psy. apoda*), *Pal. colorata* (sinônimo: *Psy. colorata*), *Pal. hoffmannseggiana*, *Pal. macrobotrys*, *Pal. sessilis* (sinônimo: *Psy. vellosiana*), *Pal. tomentosa* (sinônimo: *Psy. poeppigiana*), *Pal. violacea* (sinônimo: *Psy. capitata*) são espécies encontradas em território brasileiro e que demonstram um potencial antiplasmodial (Santos *et al.*, 2024). Dados similares foram reportados no estudo de Gontijo *et al.* (2021), onde os extratos ácido-base de *P. apoda* e *P. colorata* foram capazes de inibir em 100% o crescimento do parasita *Plasmodium falciparum*, associando a atividade antimalárica aos alcaloides pirrolidino-indólicos.

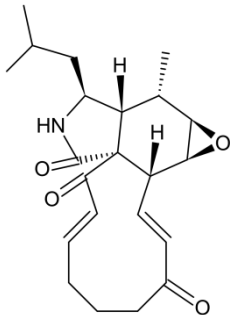
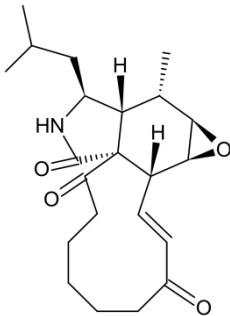
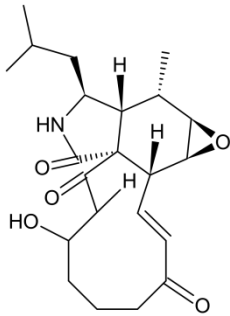
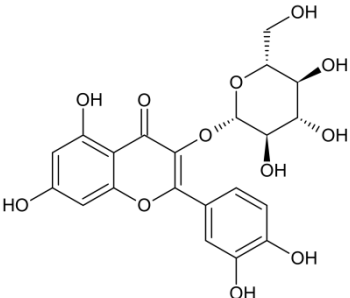
Espécies de *Palicourea* têm como marcadores químicos os alcaloides indólicos monoterpênicos (Berger *et al.*, 2022b), e também são fontes de ácidos fenólicos, cumarinas, iridoides, flavonoides, fitoesteróis e triterpenos (Santivañez; Angolini, 2024). No extrato metanólico de *P. tomentosa*, análises cromatográficas e espectrométricas apontam a presença de alcaloides, cumarinas, flavonoides, iridoides, derivados terpênicos e taninos (Formagio *et al.*, 2022). No estudo de Formagio *et al.* (2019), isolou-se o alcaloide croceaína A (**34**) do extrato metanólico das folhas de *P. crocea*, que apresenta atividade anti-edematogênica. Reporta-se a presença do alcaloide vincosamida (**42**) em *P. minutiflora*, que expressa ação seletiva frente ao crescimento de células de glioma (Moura *et al.*, 2020).

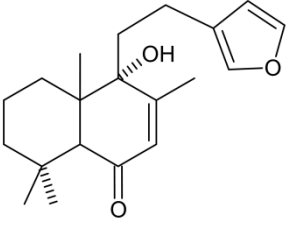
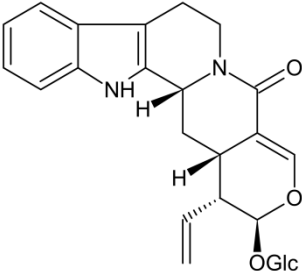
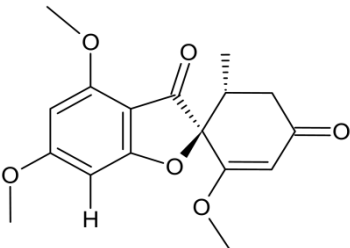
Há estudos na literatura que investigam o potencial dos fungos endofíticos de *Palicourea*, reforçando o interesse químico e biológico sobre seus microrganismos. Hinterdobler e Schinnerl (2019) isolaram o fungo endofítico *Arthrinium* sp. de *Palicourea solitudinum*, que foi capaz de produzir griseofulvina (**18**) e seu derivado 7-decloro-griseofulvina (**33**), além de reportarem a presença da substância ácido pilifôrmico (**34**) em *Fusarium proliferatum*. Hinterdobler *et al.* (2023) reporta o isolamento do fungo endofítico *Xylaria* sp. (hospedeira: *Palicourea elata*) e quatro novas moléculas denominadas lagambasinas A-D (**37-40**), alcaloides do grupo das citocalasinas (Tabela 3).

Conforme Santos *et al.* (2021), os fungos endofíticos *Colletotrichum* sp., *Pestalotiopsis* sp. e *Diaporthe* sp. (hospedeira: *Palicourea rigida*) foram capazes de produzir compostos fenólicos e flavonoides, além disso os seus extratos fúngicos apresentaram atividade antioxidante, antimicrobiana e de toxicidade frente à *Artemia salina*.

Tabela 3 - Substâncias presentes em espécies de *Palicourea* e em seus fungos endofíticos

Estrutura molecular	Substância	Planta hospedeira	Bioatividade	Referência
 (33)	ácido pilifórmico	<i>P. solitudinum</i>	antifúngica	Elias <i>et al.</i> (2018) Hinterdobler e Schinnerl (2019)
 (34)	croceina A	<i>P. crocea</i>	anti-edematogênica	Formagio <i>et al.</i> (2019)
 (35)	hodgkinsina	<i>P. colorata</i>	analgésica	Amador <i>et al.</i> (2000) Berger <i>et al.</i> (2022a)
 (36)	lagambasina A	<i>P. elata</i>	não reportada	Hinterdobler <i>et al.</i> (2023)

Estrutura molecular	Substância	Planta hospedeira	Bioatividade	Referência
 (37)	lagambasina B	<i>P. elata</i>	não reportada	Hinterdobler <i>et al.</i> (2023)
 (38)	lagambasina C	<i>P. elata</i>	não reportada	Hinterdobler <i>et al.</i> (2023)
 (39)	lagambasina D	<i>P. elata</i>	não reportada	Hinterdobler <i>et al.</i> (2023)
 (40)	quercetina 3-O- β -D-glicosídeo	<i>P. rigida</i>	anti-inflamatória	Pinheiro <i>et al.</i> (2018)

Estrutura molecular	Substância	Planta hospedeira	Bioatividade	Referência
 (41)	solidagenone	<i>P. spectabilis</i>	antifúngica	Benevides <i>et al.</i> (2004)
 (42)	vincosamida	<i>P. minutiflora</i>	anti-inflamatória citotóxica	Moura <i>et al.</i> (2020)
 (43)	7-decloro-griseofulvina	<i>P. solitudinum</i>	antifúngica	Hinterdobler e Schinnerl (2019) Zhao <i>et al.</i> (2012)

Estruturas desenhadas no software ACD/ChemSketch (Freeware) 2023.1.0

2.6. Espécie *Palicourea prancei* (Steerm.)

Palicourea prancei (Steerm.) (basiônimo: *Psychotria prancei* Steerm.) (Borhidi, 2017; Delprete e Kirkbride Jr., 2016) é uma espécie arbustiva, com até 3 metros de altura, que apresenta folhas densas, pilosas e, geralmente, com a face abaxial arroxeadada (Figura 5). Encontra-se distribuída ao longo da região amazônica, abrangendo países como Suriname, Guiana Francesa e o norte do Brasil nos estados do Amazonas e do Amapá (Borhidi, 2017; Delprete e Kirkbride, 2016; Flora e Funga do Brasil, 2025b). Em Manaus, essa espécie se encontra distribuída na Reserva Florestal Adolpho Ducke, em áreas de platô (Taylor *et al.*, 2007). Em um estudo realizado por Kinupp (2002, p. 44), contabilizou-se um total de 107 espécimes de *P. prancei* em áreas de platô da Reserva Ducke, dispersas entre altitudes de 45 a 100 m, e de inclinação média até 20°.

Figura 5 - Ocorrência da espécie *Palicourea prancei* em território brasileiro, suas características morfológicas e botânicas



Há uma escassez de dados fitoquímicos de *P. prancei*, mas segundo o estudo de Cavarsan *et al.* (2017), os extratos orgânicos (DCM/MeOH 1:1) e aquosos das partes aéreas desta planta apresentaram moderada atividade antioxidante. Além disso, para ambos os extratos, análises em cromatografia em camada delgada foram positivas para o revelador Dragendorff, sugerindo a presença de alcaloides. Os extratos não revelaram em reagente KOH 5%, e nem em reativo de Kedde, indicando que nos extratos vegetais de *P. prancei* estão ausentes substâncias como antraquinonas e cardenolídeos.

Também não há dados na literatura sobre os fungos endofíticos encontrados nessa espécie, o que torna o presente estudo importante para investigar o potencial químico e biotecnológico dos microrganismos fúngicos de *P. prancei*.

2.7. Bactérias patogênicas e resistência antimicrobiana

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2022), a resistência microbiana é um problema de saúde pública e socioeconômico de urgência mundial, que coloca em risco a saúde humana e animal. A resistência microbiana tem como protagonistas bactérias, fungos, parasitas e vírus, que atuam como patógenos resistentes ao uso de drogas convencionais para o tratamento de doenças como tuberculose, malária, pneumonia, diarreia e ISTs, tendo como consequência o aumento do nível de mortalidade dessas patologias (OMS, 2017).

A partir de um estudo de análise sistemática realizado no ano de 2019, estimou-se que 4,97 milhões de mortes estavam associadas à resistência aos antimicrobianos, em que 1,27 milhões de mortes atribuíam-se a bactérias resistentes, descrevendo-se que cada um dos seis principais patógenos bacterianos (*Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*) foram responsáveis por pelo menos 250.000 mortes (Murray *et al.*, 2022). Esta problemática

se agravou durante o período da pandemia de SARS-CoV-2, devido às co-infecções bacterianas relacionadas às condições da patologia e também pelo uso inapropriado de antimicrobianos (Freire *et al.*, 2023; Rehman, 2023; Segala *et al.*, 2021).

O uso indisciplinado e excessivo de antibióticos na medicina e em práticas agropecuárias contribui para o desenvolvimento de cepas resistentes. A exemplo, o consumo de sulfonamidas gera resíduos ao meio ambiente, visto que este medicamento não é totalmente metabolizado pelos organismos, levando à contaminação de sistemas aquáticos e da agricultura, o que ameaça a saúde humana, animal e vegetal (Chaturvedi *et al.*, 2021; Lv *et al.*, 2021; Moghadam *et al.*, 2023). A concentração de micropoluentes em corpos aquáticos e no solo levam ao desenvolvimento de microrganismos multirresistentes a antibióticos de uso comum (Chaturvedi *et al.*, 2021).

Os patógenos ESKAPE, acrônimo para *Enterococcus faecium* (E), *Staphylococcus aureus* (S), *Klebsiella pneumonia* (K), *Acinetobacter baumannii* (A), *Pseudomonas aeruginosa* (P), *Enterobacter* spp. (E), são bactérias multirresistentes e os principais agentes causadores de infecções nosocomiais, transmitidas frequentemente em unidades de tratamento intensivo (UTIs) (Aloke; Achilonu, 2023). Por conta da urgência e da alta taxa de mortalidade causada por esses microrganismos, eles fazem parte da lista de patógenos prioritários da OMS, onde estão listadas bactérias como *Acinetobacter baumannii*, *Campylobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp., entre outros microrganismos patogênicos (OMS, 2017). Na Tabela 4, consta-se as respectivas patologias e resistências de algumas dessas bactérias.

A resistência bacteriana é um mecanismo natural e evolutivo, que se divide em duas classes: resistência adquirida ou intrínseca (Blair *et al.*, 2015). A resistência adquirida é favorecida pela plasticidade das células bacterianas, que são capazes de modificar seu código genético frente às condições impostas pelo ambiente, em especial quando expostas a antibióticos. Nessas circunstâncias, as bactérias compartilham material genético por meio de processos que envolvem conjugação, transdução e translocação de genes de resistência (Bobate *et al.*, 2023; Munita; Arias, 2016; Okaiyeto *et al.*, 2024). A resistência intrínseca diz respeito às características funcionais ou estruturais que a bactéria apresenta, como a presença de um envoltório celular complexo, que confere a esses microrganismos proteção e resistência aos danos químicos, físicos e biológicos (Blair *et al.*, 2015; Brown *et al.*, 2020; Okaiyeto *et al.*, 2024).

Baseado na composição da parede celular, as bactérias podem ser classificadas como gram-positivas ou gram-negativas. As bactérias gram-positivas possuem uma camada de

peptidoglicano mais espessa do que as gram-negativas, com estruturas de ácido teicoico e lipoteicoico ancoradas ao longo da membrana citoplasmática, que auxiliam no fator de virulência e de adesão celular (Brown *et al.*, 2020). Diferentemente, as bactérias gram-negativas apresentam maior resistência aos antibióticos, dada a composição de sua parede celular, que é constituída por uma camada externa de lipopolissacarídeos a qual atua protegendo a camada de peptidoglicano (Brown *et al.*, 2020; Okaiyeto *et al.*, 2024).

Tanto as bactérias gram-positivas quanto as gram-negativas são capazes de produzir biofilmes, que é a habilidade desses microrganismos de sintetizar uma matriz polimérica extracelular de modo a aumentar a adesão bacteriana em superfícies bióticas ou abióticas, favorecendo sua sobrevivência em ambientes hostis e tornando a atividade patogênica mais resistente à ação de bactericidas. A formação de biofilmes é muito comum entre bactérias presentes em ambientes hospitalares, sendo responsáveis por infecções nosocomiais (Fernández-Billón *et al.*, 2023; Ruhai; Kataria, 2021).

Em virtude do cenário de super-resistência dos microrganismos patogênicos, os produtos naturais são explorados para o desenvolvimento de novos medicamentos. Estudos realizados com extratos brutos e substâncias isoladas de fungos endofíticos demonstram a atividade desses metabólitos contra bactérias de prioridade da OMS. A exemplo, extratos de fungos endofíticos de *Palicourea rigida* mostraram-se inibitórios contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus epidermidis* (Santos *et al.*, 2021). Os extratos brutos de fungos endofíticos da hospedeira *Geophila repens* apresentaram atividade antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (Rajendran *et al.*, 2023). O ácido graxo glicosídico isolado do fungo endofítico da planta *Scyphiphora hydrophyllacea* expressou efeito inibitório contra *Staphylococcus aureus* e contra cepas resistentes frente à metilicina (MRSA) (Zeng *et al.*, 2012).

Tabela 4 - Bactérias patogênicas de alto nível de mortalidade e suas respectivas patologias e resistências

Microrganismo	Coloração GRAM	Patologia	Resistência	Referências
<i>Acinetobacter baumannii</i>	negativa	Patógeno oportunista, comum em ambientes hospitalares e que afeta pacientes em estágio crítico. Capaz de causar pneumonia, infecções de pele, do sistema circulatório, do trato urinário, infecções nosocomiais e cirúrgicas.	Cepas resistentes a antibióticos carbapenêmicos. Sua resistência aos fármacos está associada à capacidade de produzir biofilmes.	Harding <i>et al.</i> , 2018; Kipsang <i>et al.</i> , 2023.
<i>Aeromonas hydrophila</i>	negativa	Patógeno oportunista que causa gastroenterites, sépsis, fascite necrosante, endocardite e zoonoses. Agente etiológico de doenças em peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos. Causa infecções em peixes sob condições de estresse e de poluição aquática, que podem ser transmitidas ao ser humano após o consumo alimentar.	Antibióticos como ampicilina, bacitracina, penicilina, tetraciclina e estreptomicina. Sua resistência está associada à capacidade de produzir biofilmes, além da síntese de toxinas extracelulares.	Rasmussen-Ivey <i>et al.</i> , 2016; Semwal <i>et al.</i> , 2023.

Microrganismo	Coloração GRAM	Patologia	Resistência	Referências
<i>Escherichia coli</i>	negativa	Patógeno capaz de se adaptar em diversas condições ambientais. Faz parte da microbiota gastrointestinal humana e animal, e em condições propícias, pode causar infecções em seus hospedeiros como diarreia, infecções do trato urinário, meningite, septicemia, bacteremia e pneumonia. Associa-se a contaminações hospitalares, saúde alimentar e poluição de sistemas aquáticos.	Antibióticos beta-lactâmicos (ampicilina, amoxicilina-ácido clavulânico, penicilina). Sua resistência se associa à expressão de genes de resistência contra antibióticos, que permite a síntese de enzimas como as beta-lactamases.	Ramatla <i>et al.</i> , 2023; Ramatla <i>et al.</i> , 2024.
<i>Enterococcus faecalis</i>	positiva	Encontra-se presente na microbiota estomacal de diversos animais, desde humanos até insetos. Causa infecções oportunistas em indivíduos imunossuprimidos. Responsável por contaminações em ambientes hospitalares e ecossistemas aquáticos.	Antibióticos ciprofloxacino, oxitetraciclina e ampicilina. Sua resistência se associa aos fatores de virulência controlados por quorum sensing e pela formação de biofilmes.	Ali <i>et al.</i> , 2022; Xiao <i>et al.</i> , 2024.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	negativa	Infecções que acometem diversos órgãos, principalmente o trato respiratório e gastrointestinal. Agente etiológico de pneumonias, doenças no sistema nervoso central, meningite, bacteremia, infecções endovasculares. Afeta pacientes imunossuprimidos em alas de tratamento intensivo.	Algumas cepas são resistentes aos antibióticos carbapenêmicos. Capaz de formar biofilmes que se aderem a diversas superfícies	Saifi <i>et al.</i> , 2024; Wang <i>et al.</i> , 2023.

Microrganismo	Coloração GRAM	Patologia	Resistência	Referências
<i>Morganella morganii</i>	negativa	Patógeno oportunista que está presente na microbiota de seres mamíferos. Responsável por Infecções nosocomiais, em pacientes imunossuprimidos e pacientes em tratamento intensivo.	Cepas resistentes a uma variedade de antibióticos, sendo eles: glicopeptídeos, lincosamidas, estreptograminas, rifampicina, tetraciclina, colistina e nitrofurantoína.	Alsaadi <i>et al.</i> , 2023; Liu <i>et al.</i> , 2016
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	negativa	Pneumonia, infecções no trato gastrointestinal, no trato urinário, na pele, otite externa, ceratite bacteriana. Causa sérias infecções em pacientes imunossuprimidos e em alas de tratamento intensivo.	Cepas resistentes aos antibióticos carbapenêmicos, fluoroquinolonas e cefalosporinas.	Li <i>et al.</i> , 2024; Sathe <i>et al.</i> , 2023
<i>Salmonella enterica</i>	negativa	Patógeno presente na microbiota de aves e suínos, responsável pela contaminação de alimentos. Além de infectar humanos, afeta animais domésticos e não-domésticos (mamíferos, aves e répteis).	Resistência aos antibióticos beta-lactâmicos, carbapenêmicos e colistina.	Monte <i>et al.</i> , 2019; Santos <i>et al.</i> , 2022.

Microrganismo	Coloração GRAM	Patologia	Resistência	Referências
<i>Serratia marcescens</i>	negativa	Patógeno oportunista, presente na microbiota de corais, nematoides, insetos, plantas e mamíferos. Afeta pacientes imunossuprimidos, causando pneumonia, sépsis, meningite, peritonite, endocardite, artrite e infecções cutâneas e no trato urinário. Também causa risco fitossanitário em determinadas culturas como milho, pimenta, girassol, entre outros.	Resistência aos antibióticos beta-lactâmicos, aminoglicosídeos, quinolonas e macrolídeos.	Sandner-Miranda <i>et al.</i> , 2018; Tavares-Carreón <i>et al.</i> , 2023.
<i>Staphylococcus aureus</i>	positiva	Patógeno oportunista, presente na microbiota da mucosa e da pele. Responsável por infecções cutâneas, sépsis, pericardite, osteomielite, meningite, pneumonia, endocardite e contaminação de fontes alimentícias.	Cepas resistentes aos antibióticos beta-lactâmicos (cefalosporinas e penicilinas)	Samutela <i>et al.</i> , 2021; Tataru <i>et al.</i> , 2023

2.8. *Artemia salina* L.: ensaio de toxicidade frente ao crustáceo

Artemia Leach é um gênero de crustáceos filtradores adaptados para sobrevivência em ambientes hipersalinos, muito utilizado na aquicultura como principal fonte de nutrientes para peixes e outros animais (Dairiki *et al.*, 2022; van Stappen, 2002).

A espécie *Artemia salina* é utilizada como organismo modelo em testes de toxicidade por conta da sua correlação com testes de atividade antitumoral realizados em mamíferos (Parra *et al.*, 2001; Hamidi *et al.*, 2014; Hossain *et al.*, 2018). O ensaio consiste em investigar o percentual de letalidade de substâncias contra as larvas (ou náuplios) de *Artemia*, a fim de calcular a concentração letal de 50% (CL₅₀) das amostras e avaliar seus níveis de toxicidade.

Os resultados dos testes com *A. salina* podem ser indicativos para bioatividade contra células tumorais (Narkhede *et al.*, 2022), ou que as amostras não são tóxicas frente células saudáveis (Naidu *et al.*, 2014; Sereno *et al.*, 2024; Spinelli *et al.*, 2023). Experimentos com *A. salina* são acessíveis, rápidos, econômicos e reprodutíveis para a rotina laboratorial, além de serem uma alternativa com menos restrições éticas em comparação aos ensaios convencionais, por se tratarem de seres invertebrados (Libralato *et al.*, 2016; Freires *et al.*, 2017; Ntungwe *et al.*, 2020).

Esses organismos são muito utilizados em testes ecotoxicológicos, que avaliam os impactos ambientais de agentes químicos e físicos em populações e comunidades de um ecossistema definido, como em estudos para avaliação da nanotoxicidade de ambientes aquáticos (Do *et al.*, 2023; Rajabi *et al.*, 2015; Persoone; Wells, 1987). Além disso, são empregados em bioensaios para avaliação da toxicidade de produtos naturais, como extratos de plantas e de microrganismos, visto que seus resultados são utilizados como parâmetro para seleção das substâncias de interesse para estudos *in vivo* (Arcanjo *et al.*, 2012; Hossain *et al.*, 2018; Ntungwe *et al.*, 2020).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Investigar a composição química e a atividade biológica dos extratos de fungos endofíticos de *Palicourea prancei*.

3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar o perfil químico dos extratos de fungos endofíticos de *P. prancei*.
- Avaliar as atividades antibacteriana e de toxicidade sobre *Artemia salina* dos extratos brutos de fungos endofíticos de *P. prancei*;
- Isolar e identificar as substâncias contidas no extrato do fungo endofítico selecionado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

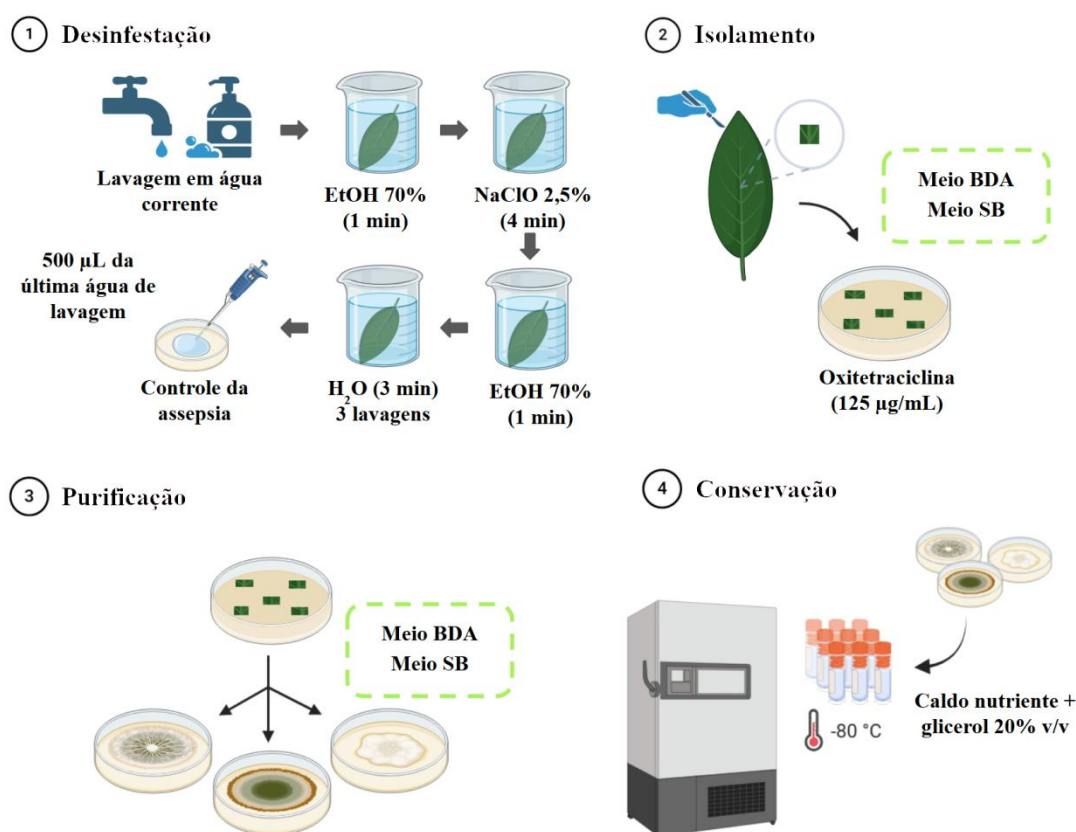
4.1. Coleta e desinfestação do material vegetal para isolamento dos fungos endofíticos

Os fungos endofíticos utilizados neste estudo foram isolados de folhas da planta *P. prancei* pelo Dr. Weison Silva em 2016, com espécime coletado na Reserva Florestal Adolfo Ducke (coordenadas: 2°48' S, 59°54' W) em 29/06/2016 e exsicata depositada no herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA I), sob o número de registro 276383. O estudo está registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN/MMA) sob o número: ADA0FB9.

Os processos de desinfestação do material vegetal, isolamento, purificação e conservação dos fungos endofíticos foram realizados no Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia (INPA I), pelo Dr. Weison Silva em 2016. O material vegetal foi submetido a uma pré-desinfestação, com lavagem em água corrente para a eliminação de sujidades. O processo de desinfestação foi realizado em cabine de segurança biológica, segundo o protocolo de Souza (2006), utilizando-se álcool 70% e hipoclorito de sódio 2,5% como agentes desinfestantes. Após a desinfestação, as folhas foram seccionadas em fragmentos de aproximadamente 1 cm, sendo inoculados 5 fragmentos em cada placa de Petri contendo meio Sabouraud dextrose ágar (SB) e meio batata dextrose ágar (BDA), suplementados de antibiótico oxitetraciclina (125 µg/mL). As placas foram incubadas em BOD a 30 °C por 12 dias para acompanhamento do crescimento dos fungos endofíticos ao longo do fragmento vegetal. Realizou-se o controle da água de lavagem para verificação da eficiência do método para a eliminação dos microrganismos epifíticos, aliquotando-se 500 µL em três placas contendo os meios de cultura SB e BDA.

Atestada a efetividade da desinfestação, realizou-se o repique dos fungos em novos meios de cultura (SB e BDA) para a purificação das colônias. Os fungos endofíticos foram conservados pelo método de criopreservação, onde os fragmentos miceliais de cada fungo foram transferidos para microtubos contendo solução de caldo nutritivo e glicerol a 20% v/v para acondicionamento em ultrafreezer (-80 °C) (Figura 6).

Figura 6 - Ilustração dos processos de desinfestação, isolamento, purificação e conservação dos fungos endofíticos isolados de *P. prancei*



*procedimento realizado pelo Dr. Weison Silva em 2016
Ilustrações elaboradas na plataforma *BioRender.com*

4.2. Reativação dos fungos endofíticos

Os fungos endofíticos de *P. prancei* que estavam criopreservados a -80 °C foram reativados em meios sólidos batata dextrose ágar (BDA) e ágar Sabouraud (SB). Em cada placa, foi adicionado um fragmento preservado no centro do meio de cultura. As placas foram acondicionadas em incubadora BOD (30 °C) para crescimento durante 12 dias. Após esse período, cada cultura viável foi separada e agrupada em função do padrão de crescimento dos micélios e das semelhanças macroscópicas do verso das placas, a fim de reunir possíveis grupos pertencentes ao mesmo gênero e/ou espécie. Ao total, foram reativados 35 fungos endofíticos, onde 12 microrganismos foram selecionados e agrupados em 6 grupos.

4.3. Avaliação preliminar dos metabólitos dos fungos endofíticos de *Palicourea prancei*

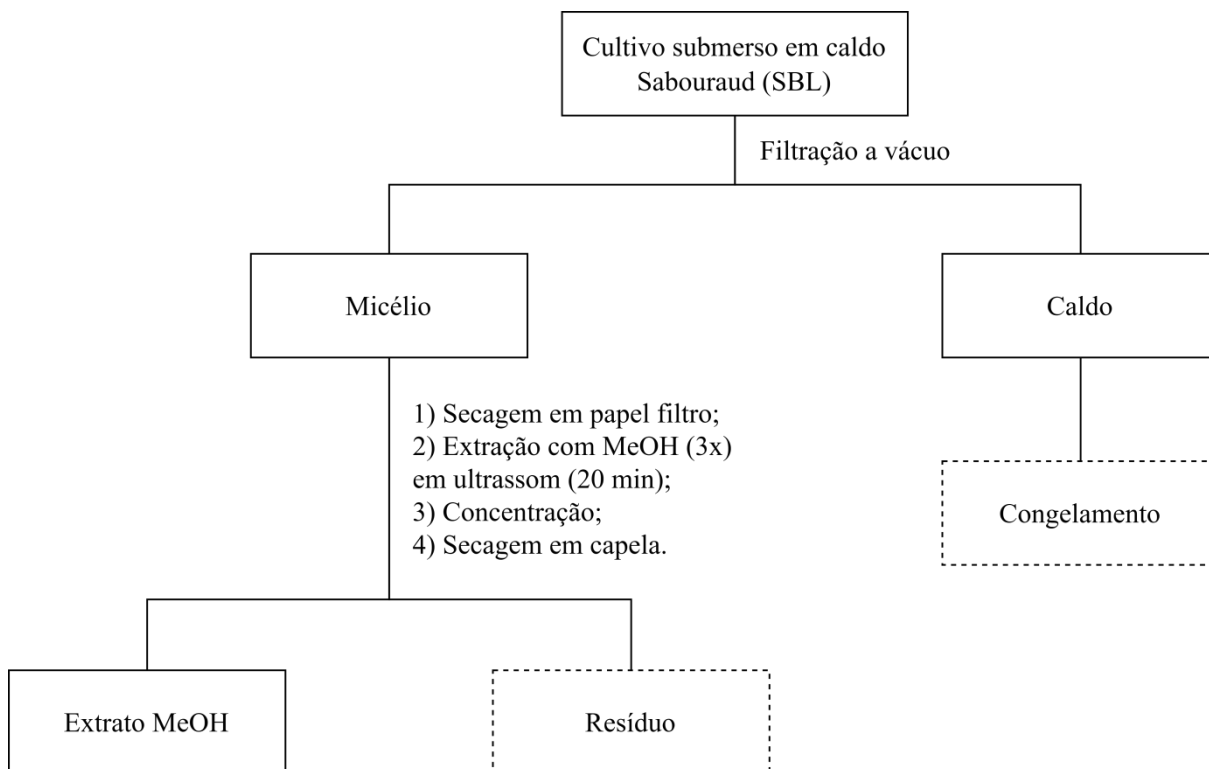
4.3.1. Cultivo submerso em pequena escala dos fungos endofíticos e extração dos metabólitos dos micélios

Na Figura 7, está representado o fluxograma das etapas do cultivo submerso. Os fungos reativados foram submetidos ao cultivo submerso em meio líquido contendo 250 mL de caldo Sabouraud acrescido de 0,2% de extrato de levedura (SBL) em frascos Erlenmeyer de 500 mL. Foram inoculados 3 fragmentos de fungos reativados em cada frasco. Os fragmentos foram seccionados com diâmetros de aproximadamente 7 x 7 mm, coletando-se os inóculos da extremidade dos micélios, referente às regiões de crescimento mais recente do microrganismo. Os frascos foram mantidos em incubadora *Shaker* (Tecnal, TE-420) durante 20 dias a 30 °C, a 120 rpm. Após o término do cultivo, realizou-se filtração a vácuo (Kitassato, funil de Buchner e papel filtro) para separação dos micélios e dos caldos metabólicos. Em seguida, os micélios de cada fungo foram secos em papel filtro e pesados em balança semi-analítica para aferir o valor da massa micelial e realizar o cálculo do rendimento.

Para a extração dos metabólitos dos micélios, foram realizadas 3 extrações com solvente metanol (MeOH) em banho de ultrassom (Unique, Ultra Cleaner) por 20 min, para cada extração. A quantidade de MeOH utilizada para as extrações obedeceu a proporção de 1 g de micélio para 5 mL de solvente. Os extratos foram concentrados em evaporador rotatório (Fisatom, 550) a 40 °C, a 40 rpm e postos para secagem completa do solvente, para posterior pesagem das massas obtidas e cálculo de rendimento.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa do extrato}}{\text{Massa micelial}} \times 100$$

Figura 7 - Fluxograma do cultivo submerso em caldo Sabouraud (SBL) dos fungos endofíticos de *P. prancei* para obtenção dos extratos MeOH



4.3.2. Análise cromatográfica dos extratos fúngicos

Para a análise inicial do perfil químico dos extratos fúngicos, aplicou-se a técnica de cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), sendo utilizadas cromatofolhas de sílica (Alugram® Xtra SIL) com indicador de fluorescência UV 254 nm. As alíquotas das amostras solubilizadas (100 mg/mL) foram aplicadas nas cromatoplasmas com auxílio de capilares de vidro. Como fase móvel, utilizou-se sistemas de solventes orgânicos em diferentes proporções. Após a eluição, a fim de revelar as substâncias de interesse presentes em cada amostra, empregou-se como revelador físico a luz ultravioleta (UV) nos comprimentos de onda 254 nm e 365 nm, e como reveladores químicos: anisaldeído sulfúrico, cloreto de alumínio (AlCl_3), cloreto férrico (FeCl_3), reagente de Dragendorff, sulfato cérico ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) e vapores de iodo (Collins *et al.*, 2006).

4.4. Identificação do fungo endofítico *Xylaria cubensis* G1 PP8

A identificação pelo método molecular do fungo endofítico *Xylaria cubensis* G1 PP8 foi realizado na Fundação Oswaldo Cruz – Instituto Leônidas e Maria Deane (FIOCRUZ) em Manaus - AM, consistindo nas etapas: extração do DNA genômico, amplificação da região ITS, purificação do produto amplificado e sequenciamento.

Foi extraído o DNA genômico do microrganismo selecionado por meio do kit *DNeasy Blood and Tissue* (Qiagen) conforme o protocolo do fabricante. Em seguida, as amostras foram amplificadas por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), com a utilização de iniciadores que flanqueiam alvos desde a região 3' do gene 18S rRNA até a região 5' do gene 28S rRNA, correspondente ao espaçador interno transcrito (ITS) ITS1 - 5,8S - ITS2. Esta região apresenta alto nível de conservação e é muito utilizada em estudos de caracterização de espécies fúngicas (Gurgel, 2020b).

As amplificações da região ITS de cada microrganismo foram submetidas à eletroforese em gel de agarose, corado com GelRed (Biotium). A purificação dos fragmentos amplificados foi realizada com PEG 20% para remoção dos reagentes não incorporados durante a amplificação, para posterior sequenciamento nucleotídico pela técnica de *Sanger*, na plataforma genômica do ILMD. Os eletroferogramas foram utilizados para a construção dos *contigs* e contagem final de cada sequência, com auxílio de softwares de bioinformática. As sequências obtidas foram submetidas a identificação a nível de espécie por meio de comparação com sequências depositadas no banco de dados *GenBank*.

A identificação morfológica do gênero do fungo selecionado foi realizada em parceria com o Laboratório de Química Aplicada à Tecnologia (EST/UEA).

4.5. Avaliação química dos metabólitos do fungo endofítico *Xylaria cubensis* G1 PP8

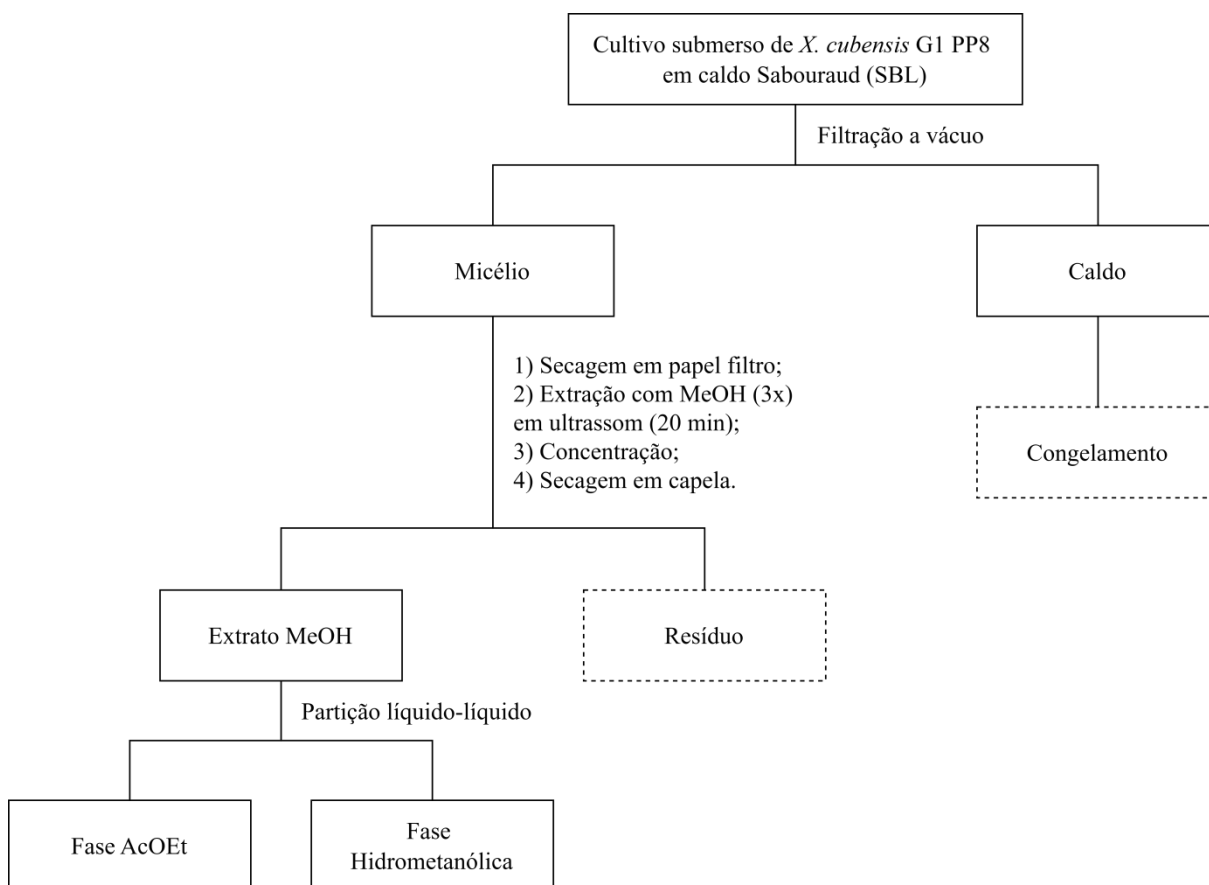
4.5.1. Cultivo submerso em escala ampliada e extração dos metabólitos dos micélios

O fungo *Xylaria cubensis* G1 PP8 foi submetido ao cultivo submerso em escala ampliada, onde os parâmetros de volume e fragmentos foram ampliados em 10 vezes em relação às condições do cultivo inicial descrito no **item 4.3.1**. Preparou-se um volume total de 5.000 mL de caldo Sabouraud acrescidos de 0,2% de extrato de levedura, dividindo-se 2.500 mL de meio líquido em dois frascos com volume de 5.000 mL. Foram inoculados nos respectivos frascos 30 fragmentos dos micélios do fungo. Cada fragmento apresentava diâmetro equivalente a 7 x 7 mm e coletou-se os inóculos da extremidade dos micélios, referente às regiões de crescimento mais recente do fungo. As condições de crescimento, secagem e filtração estão descritas no **item 4.3.1**.

Os metabólitos miceliais foram extraídos com solvente MeOH (400 mL), em três repetições, com auxílio do banho de ultrassom durante 20 min. O conteúdo extraído foi concentrado em evaporador rotatório (40 °C, 40 rpm). O material concentrado foi posto para secagem em capela de exaustão, para posterior pesagem das massas obtidas e cálculo de rendimento. O extrato foi submetido a análises químicas (CCDC e RMN de ¹H) e biológicas.

A Figura 8 contém um resumo dos procedimentos realizados para a obtenção do extrato MeOH micelial e sua fase AcOEt, a qual foi utilizada para o fracionamento.

Figura 8 - Fluxograma do cultivo em escala ampliada do fungo *X. cubensis* G1 PP8 para obtenção do extrato MeOH do micélio e sua fase AcOEt

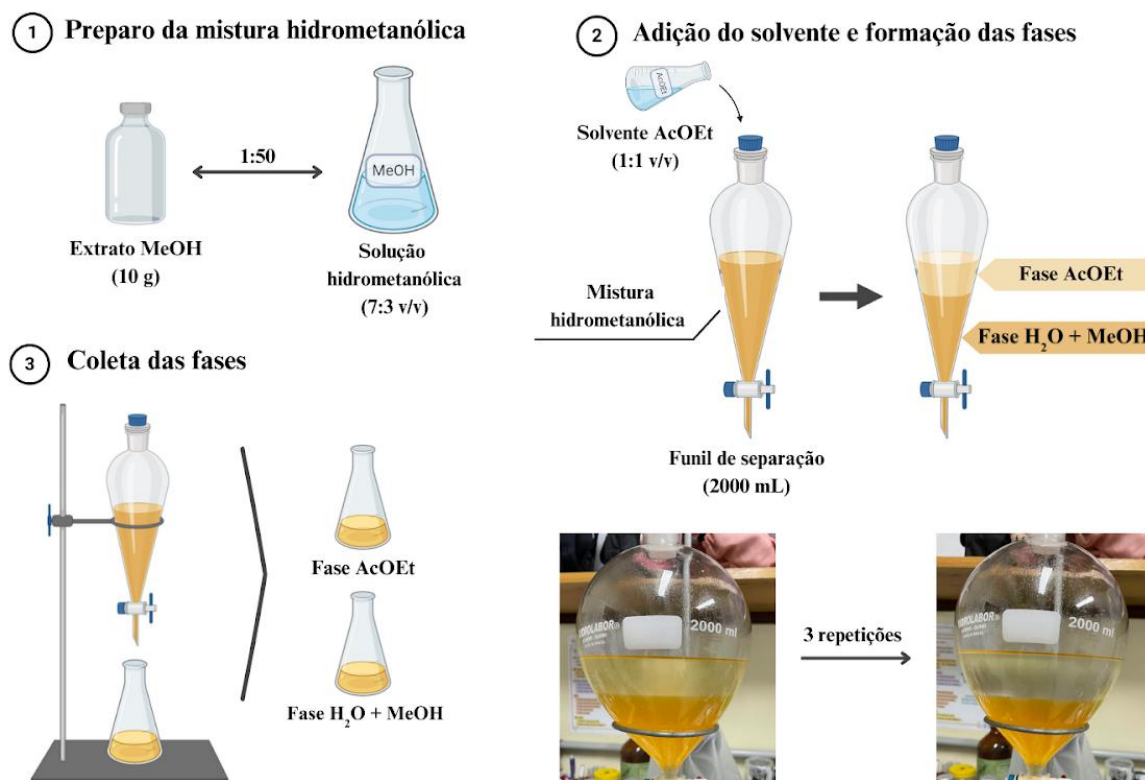


4.5.2. Partição líquido-líquido do extrato MeOH do micélio de *X. cubensis* G1 PP8

O extrato MeOH (10,008 g) do micélio foi solubilizado em solução hidrometanólica (7:3 v/v), obedecendo a proporção de 1 g de extrato para 50 mL de solução. Após a solubilização, a solução hidrometanólica foi transferida para um funil de separação, adicionando-se solvente AcOEt na proporção 1:1 v/v, promovendo uma mistura íntima entre as substâncias que possuíam afinidade com o solvente por meio de agitação dos líquidos. Após a agitação, o funil foi mantido em repouso até a formação de duas fases de líquidos imiscíveis. Esse processo foi realizado em três repetições, até que a fase com o solvente AcOEt estivesse incolor (Figura 9). Ao fim, obteve-se as fases AcOEt e hidrometanólica, que foram submetidas a concentração em evaporador rotatório e secagem em capela de exaustão de gases. Após a secagem, aferiu-se a massa total das fases em balança analítica e aplicaram-se técnicas de CCDC para a obtenção de seus perfis químicos, conforme descrito no **item**

4.3.2. A partir disso, a fase AcOEt foi selecionada para o fracionamento e realização dos ensaios biológicos.

Figura 9 - Etapas do processo de partição líquido-líquido do extrato MeOH do micélio de *X. cubensis* G1 PP8

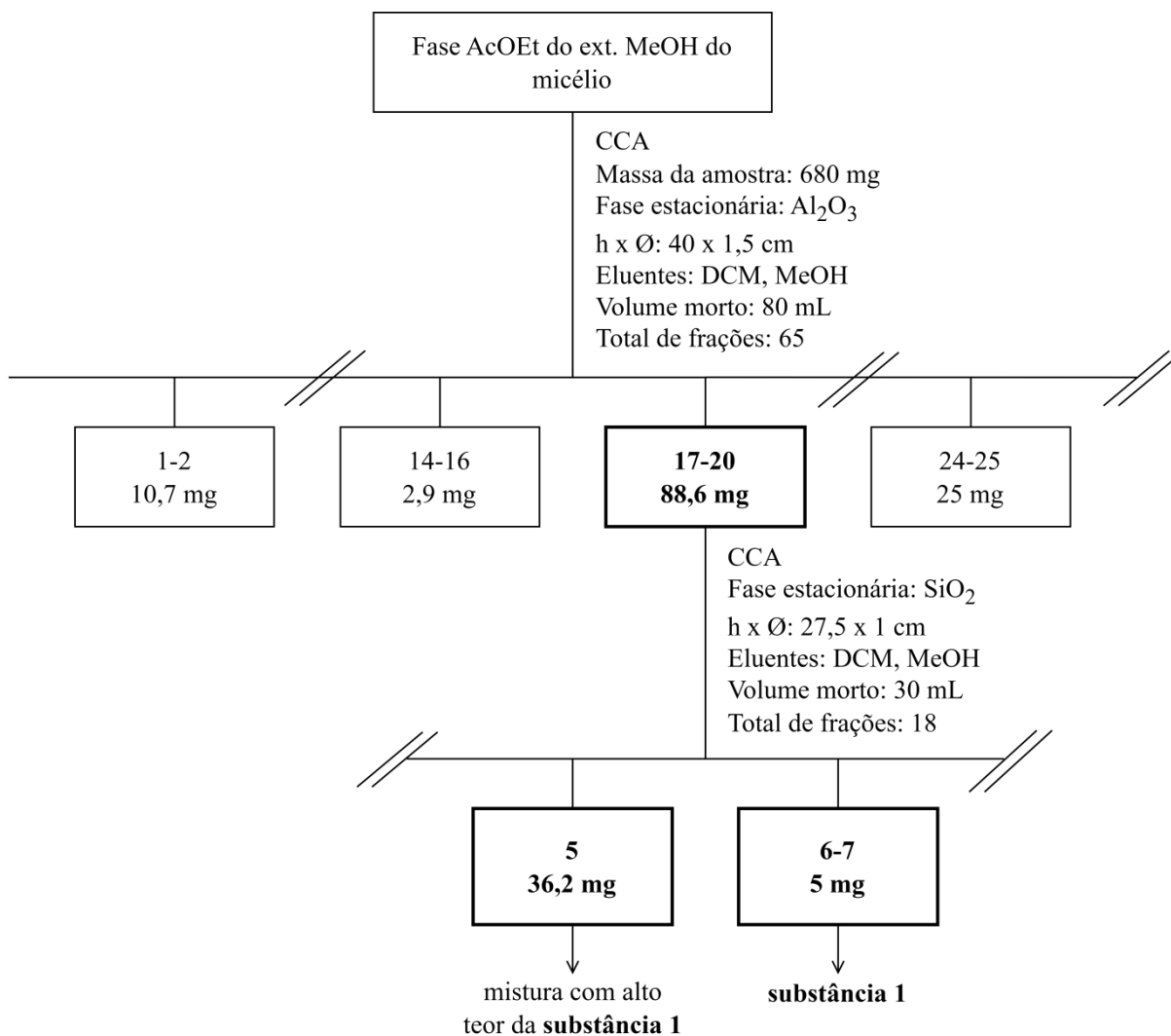


Ilustrações elaboradas na plataforma *BioRender.com*

4.5.3. Fracionamento da fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de *X. cubensis* G1 PP8

As análises realizadas em CCDC foram utilizadas como parâmetro para a escolha da fase estacionária e dos eluentes mais eficazes para a separação dos metabólitos da fase AcOEt do extrato MeOH do fungo *X. cubensis* G1 PP8. Para o isolamento e purificação das substâncias de interesse, foram empregadas técnicas de cromatografia em coluna aberta (CCA). A Figura 10 representa o fluxograma do fracionamento.

Para o fracionamento da fase AcOEt do extrato MeOH, inicialmente obteve-se uma pastilha preparada com alumina neutra e 680 mg da amostra. A pastilha foi adicionada à coluna (h x Ø: 40 x 1,5 cm) empacotada com alumina neutra, obedecendo-se à proporção 1:100 (1 g de extrato : 100 g de fase estacionária). A eluição foi realizada com DCM, gradientes de DCM/MeOH e finalizada em MeOH. Ao fim, coletou-se 65 frações (Quadro 1) as quais foram analisadas por CCDC (método descrito no **item 4.3.2**) e posteriormente reunidas.

Figura 10 - Fluxograma do fracionamento da fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de *X. cubensis* G1 PP8**Quadro 1** - Sistemas de eluição utilizados para o fracionamento da fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de *X. cubensis* G1 PP8 e as respectivas frações coletadas de cada sistema

Cromatografia em coluna aberta da fase AcOEt	
Sistema de eluição	Frações coletadas
DCM 100%	1-13
DCM/MeOH 95:5	14-20
DCM/MeOH 9:1	21-22
DCM/MeOH 8:2	23-37
DCM/MeOH 7:3	38-52
DCM/MeOH 1:1	53-64
MeOH 100%	65

A fração 17-20 (88,6 mg) foi submetida a novo fracionamento em coluna aberta de sílica gel (230-400 *mesh*, h x Ø: 27,5 x 1 cm) e eluída em DCM e em gradientes de DCM/MeOH, obtendo-se 18 frações no total (Quadro 2), as quais foram analisadas por técnicas de CCDC (método descrito no **item 4.3.2**). As frações 5 (36,2 mg) e 6-7 (5 mg) apresentaram indícios de substância nitrogenada ao revelarem em reagente de Dragendorff e foram enviadas para análises uni e bidimensionais de RMN. Da fração F6-7, isolou-se a substância 1, enquanto F5 demonstrou ser mistura da substância em questão.

Quadro 2 - Sistemas de eluição utilizados para o fracionamento da mistura de frações F17-20 e as respectivas frações coletadas de cada sistema

Cromatografia em coluna aberta da fração F17-20	
Sistema de eluição	Frações coletadas
DCM 100%	1
DCM/MeOH 99:1	2-4
DCM/MeOH 98:2	5-6
DCM/MeOH 97:3	7
DCM/MeOH 95:5	8-10
DCM/MeOH 9:1	11-13
DCM/MeOH 8:2	14-16
DCM/MeOH 7:3	17-18

4.6. Identificação estrutural da substância isolada

Os experimentos de ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de massas (EM) foram realizados em parceria com a Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais do INPA (CA - LTQPN/INPA).

4.6.1. Ressonância magnética nuclear (RMN)

As amostras foram solubilizadas em solvente orgânico deuterado, conforme descrito na Tabela 5. Obteve-se os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) em equipamento Fourier 300 UltraShield (*Bruker*), o qual foi operado a 300 MHz para ^1H uni e bidimensionais como *Correlated Spectroscopy* (COSY), *Heteronuclear Single Quantum Correlation* (HSQC) e *Heteronuclear Multiple Bond Coherence* (HMBC) e a 75 MHz para ^{13}C [*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer* (DEPT) 135°] (Silverstein *et al.*, 2005). Para o processamento dos dados e avaliação dos espectros, foi utilizado o software

TopSpin 4.4.1 (*Bruker*). Todos os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em unidades de parte por milhão (ppm) relativos ao sinal do solvente deuterado e as constantes de acoplamento (J) foram registradas em hertz (Hz).

Tabela 5 - Relação das amostras enviadas para análises de RMN e suas respectivas massas, solventes utilizados para solubilização e os tipos de análises empregadas

Amostra	Massa (mg)	Solvente	Análise
Extrato MeOH	15	DMSO- d_6	^1H
Fase AcOEt	15	CDCl_3	^1H
F5 (C2)	36,2	DMSO- d_6	uni e bid.
F6-7 (C2)	5	DMSO- d_6	uni e bid.

4.6.2. Espectrometria de massas (EM)

Forneceu-se 1 mg da substância 1 para realização dos experimentos por espectrometria de massas (EM). As análises por EM foram realizadas em fonte de ionização por *Electrospray* (IES ou ESI) no modo positivo, em espectrômetro de massas MicroTOF-Q II (*Bruker*) de alta resolução.

4.7. Ensaios biológicos

4.7.1. Ensaio de atividade antibacteriana

Os ensaios de atividade antibacteriana dos extratos MeOH (pequena e escala ampliada) e da fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de *X. cubensis* G1 PP8 foram realizados utilizando o método de microdiluição em placas de 96 poços (CLSI, 2015). As cepas utilizadas neste ensaio foram concedidas pelo Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD) - Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), conforme descritas na Tabela 6.

As cepas foram reativadas em meio ágar Mueller Hinton e mantidas em BOD para crescimento durante 24 h, a 37 °C. Após esse período, preparou-se a suspensão de células bacterianas seguindo a turvação de 0,5 da escala McFarland, equivalente a uma suspensão contendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Para o preparo das amostras, separaram-se 10 mg de cada extrato para diluição em DMSO 5%.

Adicionaram-se em cada poço 90 μL de caldo Mueller Hinton com as amostras, para serem inicialmente testadas à concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$, em triplicata, acrescidos de 10 μL do inóculo. Como controles negativo e positivo, foram utilizados DMSO 5% e o antibiótico oxitetraciclina (125 $\mu\text{g/mL}$), respectivamente, aplicando-se 100 μL de cada controle aos

poços junto com os inóculos. Ao final, as placas de microdiluição foram mantidas em incubadora BOD durante 24 h, a 37 °C. Acompanhou-se a inibição do crescimento em espectrofotômetro no comprimento de onda de 625 nm, aferindo-se a diferença de densidade óptica entre as leituras inicial e final. Os dados foram tratados em planilhas e gráficos a partir do software LibreOffice Calc (Versão 7.5.3.2).

Tabela 6 - Cepas de bactérias patogênicas testadas no ensaio antibacteriano frente aos extratos fúngicos de *P. prancei*

Linagem ¹	Bactérias patogênicas	Sigla	Coloração de GRAM
0664	<i>Acinetobacter baumannii</i>	AB	-
0162	<i>Aeromonas hydrophila</i>	AH	-
0006	<i>Escherichia coli</i>	EC	-
0621	<i>Enterococcus faecalis</i>	EFL	+
0051	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KP	-
0138	<i>Morganella morganii</i>	MM	-
0519	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PA	-
0026	<i>Staphylococcus aureus</i>	SA	+
0209	<i>Salmonella enterica</i>	SE	-
0069	<i>Serratia marcescens</i>	SM	-

¹Linagem de bactérias ILMD-Fiocruz (CBAM)

4.7.2. Ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*

Os ensaios para avaliar a atividade tóxica dos extratos MeOH (pequena e escala ampliada) e da fase AcOEt do extrato MeOH do fungo G1 PP8 frente à *A. salina* foram realizados em triplicata, inicialmente para as concentrações 1000 µg/mL e 500 µg/mL, solubilizando-se 10 mg de cada extrato fúngico do micélio em 250 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) e em 750 µL de água salina. A partir dos resultados obtidos, realizaram-se testes em concentrações menores (250 µg/mL; 125 µg/mL; 60 µg/mL; 30 µg/mL; 15 µg/mL; 7,5 µg/mL; 3,75 µg/mL; 0,95 µg/mL; 0,25 µg/mL) para os extratos tóxicos.

Para a coleta dos náuplios, foram adicionados 20 mg de cistos de *A. salina* em solução salina (38 g/L de sal marinho), mantidos sob aeração e luz artificial durante 48 h. Em placas de 24 poços, foram transferidos 200 µL de água salina contendo 10 indivíduos de *Artemia* em todos os poços, onde foram aliqüotadas as diferentes concentrações das amostras (extratos MeOH e fase AcOEt), completando-se com água salina até alcançar o volume total de 1000 µL em todos os poços (concentração de amostras e controles). Em triplicata, aplicou-se como controle negativo 100 µL da mistura de DMSO (250 µL) e água salina (450 µL), enquanto foram aplicados 500 µL do controle positivo, composto pela solução de dicromato de potássio 1%. As placas foram incubadas sob luz artificial a 25 °C por 24 h, para posterior

contabilização dos indivíduos sobreviventes. Para o cálculo da concentração letal (CL₅₀), foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism 10.4.1. A classificação da toxicidade das amostras para as concentrações testadas nos ensaios preliminares está representada no Quadro 3.

Quadro 3 - Níveis de toxicidade baseados no percentual de mortalidade dos náuplios de *A. salina* para testes em concentrações de 1000 e 500 µg/mL

Mortalidade (em %)	Classificação
0 - 9%	Não tóxico
10 - 49%	Ligeiramente tóxico
50 - 89%	Tóxico
90 - 100%	Altamente tóxico

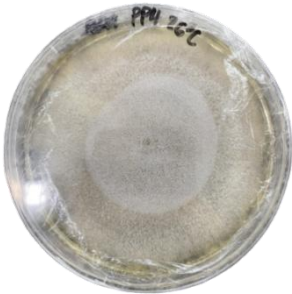
Fonte: Atayde *et al.*, (2011); Harwig e Scott (1971)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Reativação dos fungos endofíticos

Ao total, foram reativados 35 fungos endofíticos isolados de folhas de *P. prancei*, e de acordo com a viabilidade das reativações dentro do período de 12 dias e com a macroscopia dos micélios, selecionaram-se 12 fungos para realização do cultivo submerso. Os microrganismos foram subdivididos em grupos, baseados nas características do verso das placas, uma vez que a macromorfologia dos micélios dos fungos isolados é majoritariamente cotonosa com halos brancos e acinzentados. Desse modo, foi possível dividi-los em 6 grupos diferentes, conforme ilustrado na Tabela 7.

Tabela 7 - Características macroscópicas dos fungos endofíticos reativados a partir da planta *P. prancei*

Fungo	Frente	Verso
Grupo 1 (G1) - Característica do verso: centro claro		
G1 PP4		

G1 PP7



G1 PP8



Grupo 2 (G2) - Característica do verso: halo externo escuro e halo interno claro

G2 PP5



G2 PP12

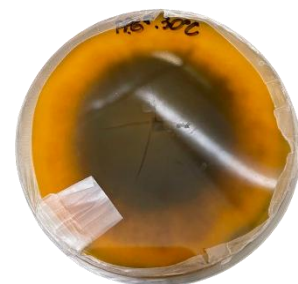


Grupo 3 (G3) - Característica do verso: halo externo claro e halo interno escuro

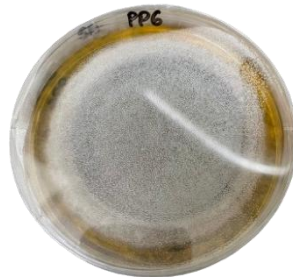
G3 PP3



Grupo 4 (G4) - Característica do verso: centro escuro

G4 PP6**G4 PP11**

Grupo 5 (G5) - Característica do verso: halo escuro

G5 PP6**G5 PP14**

Grupo 6 (G6) - Característica do verso: estriado

G6 PP7



G6 PP15

**Tabela 8** - Classificação dos fungos endofíticos de *P. prancei*

Grupo	Código	Meio de cultura
G1	PP4	BDA
G1	PP7	BDA
G1	PP8	BDA
G2	PP5	BDA
G2	PP12	SB
G3	PP3	BDA
G4	PP6	SB
G4	PP11	SB
G5	PP6	SB
G5	PP14	SB
G6	PP7	SB
G6	PP15	SB

Destaca-se que os microrganismos utilizados neste trabalho estavam sob criopreservação, sendo necessário reativá-los. Utilizou-se os meios de cultura ágar Sabouraud (SB) e ágar batata dextrose (BDA) para o cultivo dos fungos, uma vez que o isolamento foi realizado utilizando ambos os meios para os respectivos microrganismos, conforme consta na Tabela 8. Ao total, foram reativados 35 fungos e 27 culturas mostraram-se viáveis, inferindo-se que o método de conservação dos fungos endofíticos foi efetiva. Entretanto, repiques sucessivos possibilitam alterações genéticas (mutagênese) e morfológicas desses

microrganismos, podendo influenciar diretamente na produção de metabólitos secundários (Lei *et al.*, 2024).

Em espécies de *Palicourea*, já foi reportada a presença dos fungos endofíticos *Colletotrichum sp.*, *Diaphorte sp.* e *Pestalotiopsis sp.* (Santos *et al.*, 2021), *Arthrinium arundinis*, *Clonostachys sp.*, *Fusarium proliferatum* e *Xylaria sp.* (Hinterdobler; Schinnerl, 2019), *Aspergillus sp.*, *Glomerella sp.*, *Guignardia sp.* e *Phomopsis sp.* (Souza *et al.*, 2004).

5.2. Avaliação preliminar dos metabólitos dos fungos endofíticos de *Palicourea prancei*

5.2.1. Rendimento dos extratos fúngicos

Após o cultivo submerso em meio SBL, a extração dos micélios realizada com MeOH resultou na obtenção dos extratos brutos, em que as amostras de G1 PP8, G4 PP11 e G6 PP7 apresentaram massas totais equivalentes a 738,8 mg, 456,0 mg e 440,2 mg, respectivamente, sendo os três maiores valores entre os extratos obtidos. Apesar de ter apresentado a maior massa micelial e a maior massa de extrato bruto, G1 PP8 expressou o menor rendimento (2,9%), enquanto G1 PP4 apresentou o maior rendimento (5,5%), seguido de G1 PP7 (5,1%) e G2 PP5 (4,4%) (Tabela 9).

Dentre os fungos endofíticos selecionados, destaca-se que o fungo G1 PP8, em meio sólido BDA, apresentou um crescimento relativamente lento em relação aos outros microrganismos, conforme as características dos micélios contidas na Tabela 7. Já em meio líquido (SBL), G1 PP8 apresentou a maior massa micelial, evidenciando que fatores como a composição do meio de cultura, condições de cultivo (agitado ou estático), aeração, temperatura e tempo de cultivo influenciam diretamente no metabolismo do microrganismo, sendo cruciais para a produção de metabólitos de interesse.

Em relação à composição dos meios de cultura utilizados, observa-se que o meio BDA é composto majoritariamente por fontes de carbono, como amido de batata e dextrose, enquanto o meio caldo Sabouraud é rico em peptonas, provenientes da mistura de digestivo péptico de tecido animal e digestivo pancreático de caseína, que são fontes de nitrogênio, além disso, a suplementação com extrato de levedura também contém fontes de N (Acharya; Hare, 2022). No estudo de Brinda *et al.* (2021), comparou-se o crescimento micelial de cogumelos nos meios BDA e BDPA (batata dextrose peptona ágar), e verificou-se que o meio suplementado com peptona foi capaz de acelerar o crescimento dos fungos. Em um estudo realizado com fungos filamentosos, os meios caldo Sabouraud e YNB, que são meios que contêm fontes de nitrogênio, apresentaram os maiores índices de crescimento para os microrganismos *Aspergillus fumigatus* e *Rhizopus microsporus* (Meletiadiis *et al.*, 2001).

Sendo assim, infere-se que o alto crescimento micelial do fungo G1 PP8 pode estar associado às fontes de nitrogênio presentes tanto no caldo Sabouraud, quanto no extrato de levedura.

Tabela 9 - Relação das massas miceliais, dos extratos MeOH e seus respectivos rendimentos

Fungo	Massa micelial (g)	Extrato de MeOH (g)	Rendimento (%)
G1 PP4	7,050	0,3910	5,5
G1 PP7	7,590	0,3868	5,1
G1 PP8	25,670	0,7388	2,9
G2 PP5	8,550	0,3791	4,4
G2 PP12	8,770	0,3396	3,9
G3 PP3	10,870	0,3819	3,5
G4 PP6	10,130	0,3744	3,7
G4 PP11	12,030	0,4560	3,8
G5 PP6	8,970	0,1659	1,8
G5 PP14	7,650	0,2168	2,8
G6 PP7	11,790	0,4402	3,7
G6 PP15	5,580	0,1913	3,4

5.2.2. Análise cromatográfica dos extratos fúngicos

Os extratos MeOH dos micélios obtidos por meio da massa micelial foram eluídos em fase móvel AcOEt/acetona (1:1), permitindo a verificação das principais classes químicas presentes nas amostras a partir do emprego de reveladores físicos e químicos, conforme os resultados mostrados na Figura 11.

Todos os extratos apresentaram fluorescência nos reveladores físicos (UV 254 nm e 365 nm) e manchas na presença de vapores de iodo, o que indicam a presença de substâncias com ligações duplas e ligações duplas conjugadas. Frente ao revelador cloreto de alumínio, os cromóforos observados em UV 365 nm foram intensificados. Em relação aos reveladores anisaldeído sulfúrico e sulfato cérico, os extratos expressaram manchas de coloração arroxeada e rosada, o que sugere a presença de terpenos ou esteroides, porém as bandas observadas em $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ foram menos intensas do que aquelas que se apresentaram em anisaldeído. Todas as amostras reagiram em cloreto férrico, apresentando colorações escurecidas, inferindo-se a presença de substâncias fenólicas. Frente ao reagente de Dragendorff, todos os extratos revelaram manchas alaranjadas que caracterizam substâncias nitrogenadas. No entanto, somente o extrato de G1 PP8 apresentou uma leve mancha de

eluição além da origem, ao contrário dos outros extratos, cujas bandas permaneceram retidas no ponto de aplicação (Figura 11.H).

Com base nos dados obtidos por CCDC, os doze extratos miceliais manifestaram indícios de substâncias com ligações duplas, podendo haver a presença de terpenos, fenólicos e alcaloides. Esses resultados corroboram com a literatura, visto que *Palicourea* é um gênero abundante em alcaloides indólicos monoterpênicos e, por isso, análises realizadas em CCD costumam ser positivas para o revelador Dragendorff (Cavarsan *et al.*, 2017).

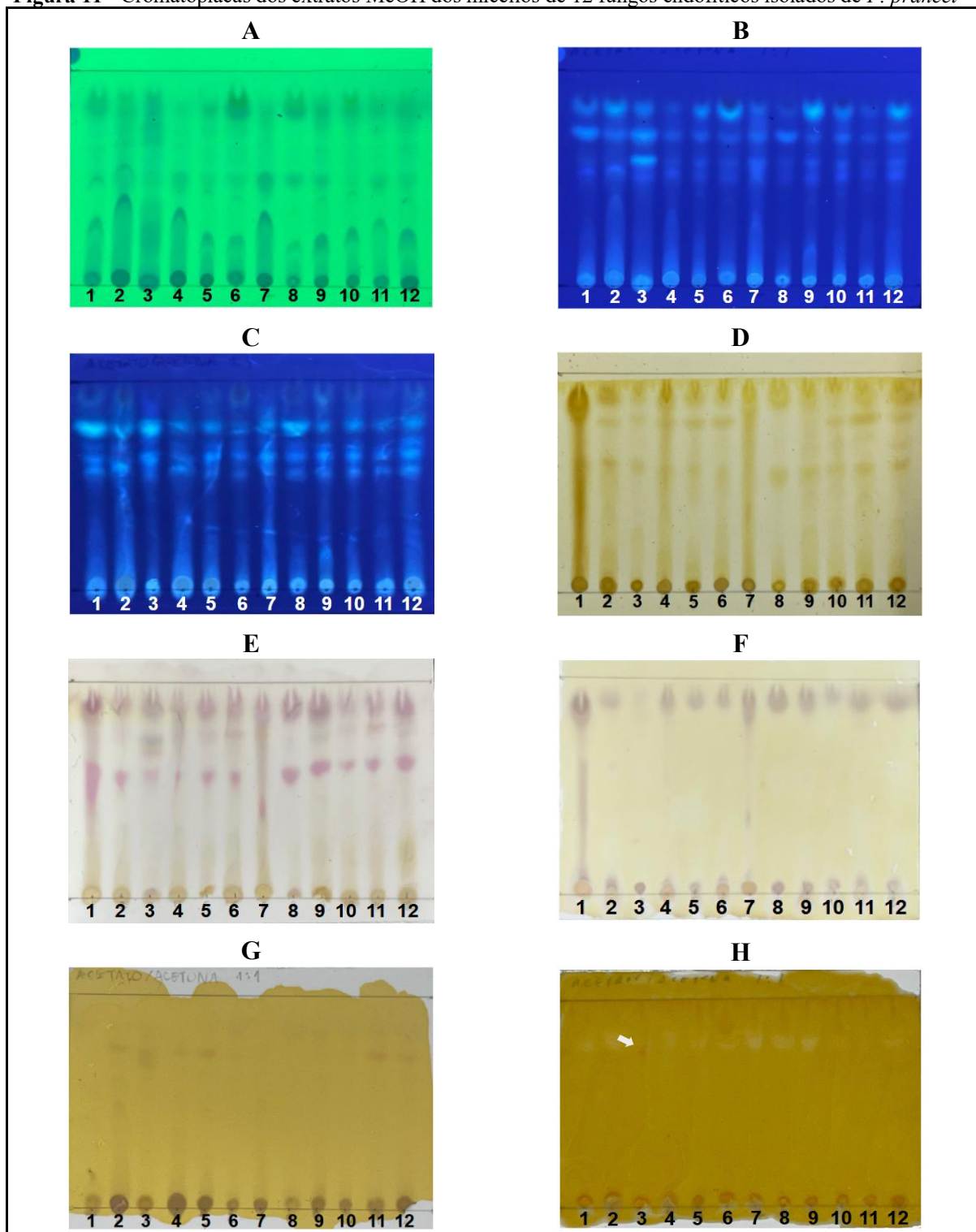
Embora os alcaloides sejam um traço quimiotaxonômico entre plantas do gênero *Palicourea*, não são todas as espécies que apresentam esses metabólitos em sua fitoquímica, dado a influência de fatores intrínsecos e exógenos à hospedeira, como a variabilidade genética de seus indivíduos e as condições edafoclimáticas (Tan *et al.*, 2012). Além disso, acrescenta-se que as condições de extração e de cultivo (nutrição, aeração, temperatura) atuam diretamente no perfil químico dos microrganismos, visto que o cultivo axênico tende a reduzir a biossíntese de metabólitos, já que a dinâmica endófito-hospedeira desempenha um papel importante para o metabolismo secundário (Gupta *et al.*, 2020; Kusari e Spiteller, 2012).

Tabela 10 - Classes químicas dos extratos MeOH dos micélios de fungos endofíticos de *P. prancei*

Nº	Extrato	Duplas ligações	Alcaloides	Terpenos	Substâncias Fenólicas
1	G1 PP4	+	-	+	+
2	G1 PP7	+	-	+	+
3	G1 PP8	+	+	+	+
4	G2 PP5	+	-	+	+
5	G2 PP12	+	-	+	+
6	G3 PP3	+	-	+	+
7	G4 PP6	+	-	+	+
8	G4 PP11	+	-	+	+
9	G5 PP6	+	-	+	+
10	G5 PP14	+	-	+	+
11	G6 PP7	+	-	+	+
12	G6 PP15	+	-	+	+

(+): presença de manchas; (-): ausência de manchas

Figura 11 - Cromatoplasas dos extratos MeOH dos micélios de 12 fungos endofíticos isolados de *P. prancei*



Legenda: Sistema de eluição AcOEt/acetona (1:1). Reveladores: **A:** UV 254 nm, **B:** UV 365 nm, **C:** cloreto de alumínio (AlCl_3) em UV 365 nm, **D:** vapor de iodo, **E:** anisaldeído sulfúrico, **F:** sulfato cérico ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$), **G:** cloreto férrico (FeCl_3), **H:** reagente de Dragendorff.

5.3. Ensaios biológicos preliminares dos extratos fúngicos de *Palicourea prancei*

5.3.1. Ensaio de atividade antibacteriana

No ensaio preliminar à concentração de 1000 µg/mL, realizado pelo método de microdiluição em caldo, os extratos MeOH dos micélios de G1 PP8 e G2 PP5 apresentaram atividade bacteriostática frente aos microrganismos *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus* (Tabela 11).

Contra *A. hydrophila* e *S. aureus*, G1 PP8 demonstrou percentuais de inibição equivalentes a $44,69 \pm 0,03$ e $35,78 \pm 0,02$, respectivamente. Já o extrato G2 PP5 foi inibitório a um percentual de $48,68 \pm 0,02$ frente à *A. hydrophila* e $58,37 \pm 0,01$ contra *S. aureus*. O extrato G3 PP3 mostrou-se ativo para *A. hydrophila* ($29,11 \pm 0,12$) e *Pseudomonas aeruginosa* ($24,31 \pm 0,02$). O extrato G5 PP14 somente apresentou atividade para *S. aureus* ($33,12 \pm 0,06$). G5 PP6 e G1 PP4 foram os extratos que exibiram os menores percentuais de inibição, com baixo grau de significância (Tabela 11).

A atividade antibacteriana dos extratos brutos dos fungos endofíticos de *P. prancei* foi baixa, e apenas os extratos de G1 PP8 e G2 PP5 apresentaram percentuais significativos para as bactérias *A. hydrophila* e *S. aureus*. No estudo de Udegbumam *et al.* (2018), a substância esqualeno, isolada do extrato clorofórmico das folhas de *P. croceiodes*, expressou potencial inibitório promissor contra *Enterobacter aerogenes* (CIM = 31,3 µg/mL) e *Klebsiella pneumonia* (CIM = 15,6 µg/mL). É reportado que os extratos fúngicos de *Palicourea rigida* apresentam potencial inibitório moderado frente às bactérias patogênicas *Escherichia coli* (CIM = 27 mg/mL), *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus epidermidis* (CIM = 23,2 mg/mL) (Santos *et al.*, 2021). Verifica-se atividade antibiótica nos extratos de fungos endofíticos isolados de *Palicourea longiflora* para *Bacillus subtilis*, *E. coli* e *S. aureus* (Souza *et al.*, 2004).

Os resultados obtidos corroboram com os dados levantados sobre o potencial antibacteriano dos fungos endofíticos de *P. prancei*. A baixa atividade apresentada pelos extratos deste estudo pode estar associada ao fato de serem extratos do solvente MeOH, que são ricos em açúcares (Chavan; Amarowicz, 2013) e impedem a ação dos metabólitos presentes nos extratos, levando em conta a parede celular bacteriana, que atua como um fator de resistência. As bactérias gram-negativas se beneficiam desse fator, dado que sua parede celular contém um envoltório de lipopolissacarídeos ancorado ao de peptidoglicano, o que dificulta a ação de antibióticos das classes dos β -lactâmicos, tetraciclina e fluoroquinolonas, cujas moléculas são hidrofílicas (Brown *et al.*, 2020; Munita; Arias, 2016).

Tabela 11 - Porcentagem de inibição do crescimento bacteriano diante dos extratos miceliais a 1000 µg/mL

Extratos	Porcentagem de inibição (%) Microrganismos testados									
	AB	AH	EC	EFL	KP	MM	PA	SA	SE	SM
G1 PP4	-	-	-	-	-	-	-	-	1,28 ± 0,01	-
G1 PP7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G1 PP8	-	44,69 ± 0,03	-	-	-	-	-	35,78 ± 0,02	-	-
G2 PP5	-	48,68 ± 0,02	-	-	-	-	-	58,37 ± 0,01	-	-
G2 PP12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G3 PP3	-	29,11 ± 0,12	-	-	-	-	24,31 ± 0,02	-	-	-
G4 PP6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G4 PP11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G5 PP6	-	-	-	-	-	9,63 ± 0,05	-	-	-	-
G5 PP14	-	-	-	-	-	-	-	33,12 ± 0,06	-	-
G6 PP7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G6 PP15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxitetraciclina	99,79	99,79	99,88	99,95	99,89	99,87	99,85	99,84	99,90	99,83

Legenda: AB - *Acinetobacter baumannii*; AH - *Aeromonas hydrophila*; EC - *Escherichia coli*; EFL - *Enterococcus faecalis*; KP - *Klebsiella pneumoniae*; MM - *Morganella morganii*; PA - *Pseudomonas aeruginosa*; SA - *Staphylococcus aureus*; SE - *Salmonella enterica*; SM - *Serratia marcescens*; C+: Oxitetraciclina; C-: DMSO 5%

5.3.2. Ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*

No ensaio de toxicidade frente aos indivíduos de *Artemia salina*, G1 PP8 foi o extrato que se mostrou tóxico, com alta taxa de mortalidade nas duas concentrações iniciais de 1000 e 500 µg/mL. Os extratos G1 PP4, G2 PP5, G6 PP7, G6 PP15 apresentaram baixa toxicidade em ambas as concentrações testadas, enquanto o restante das amostras expressou baixa toxicidade em 1000 µg/mL e inatividade em 500 µg/mL (Tabela 12). O extrato G1 PP8 foi testado em outras concentrações, revelando-se altamente tóxico até 125 µg/mL, tóxico até 7,5 µg/mL e ligeiramente tóxico em 3,75 µg/mL (Tabela 13). Desse modo, obteve-se $CL_{50} = 2,76$ µg/mL, inferindo-se que o extrato micelial de G1 PP8 apresenta alta toxicidade.

No estudo de Coe *et al.* (2010), sugere-se que a citotoxicidade das plantas medicinais esteja associada à presença de metabólitos como alcaloides, além de demonstrar que plantas da família Rubiaceae tendem a ser mais tóxicas nos ensaios com *A. salina*. Em testes *in vivo*, o extrato liofilizado da parte aérea de *Palicourea corymbifera* expressou toxicidade com $CL_{50} = 1,10$ (1,04-1,15) g/kg para camundongos macho e $CL_{50} = 1,05$ (1,00-1,10) g/kg para camundongos fêmea (Assis *et al.*, 2006). No estudo de Santos *et al.* (2021), extratos de fungos endofíticos isolados de *Palicourea rigida* mostraram-se tóxicos frente *A. salina*, com CL_{50} inferior a 100 mg/mL.

Dessa forma, os dados da literatura corroboram com os resultados obtidos com o extrato fúngico micelial G1 PP8, isolado de *P. prancei*, além de indicar que a toxicidade do extrato tem como fator a presença de um possível alcaloide, visto os resultados apresentados no item 5.2.2.

Tabela 12 - Porcentagem de mortalidade dos indivíduos de *A. salina* frente aos extratos de fungos endofíticos de *P. prancei*

Extratos de MeOH	Concentrações (µg/mL)	
	1000	500
G1 PP4	37%	17%
G1 PP7	17%	3%
G1 PP8	100%	97%
G2 PP5	30%	13%
G2 PP12	23%	7%
G3 PP3	20%	7%
G4 PP6	27%	7%
G4 PP11	0	3%

G5 PP6	17%	7%
G5 PP14	13%	3%
G6 PP7	37%	27%
G6 PP15	13%	13%

Tabela 13 - Mortalidade dos indivíduos de *A. salina* frente a diferentes concentrações do extrato MeOH do fungo G1 PP8

Concentração (µg/mL)	Mortalidade (%)	CL₅₀
250	93	2,76 µg/mL
125	93	
60	87	
30	87	
15	83	
7,5	67	
3,75	63	
0,95	7	
0,25	3	

5.4. Identificação do fungo endofítico *Xylaria cubensis* G1 PP8

Para a execução do cultivo em escala ampliada e avaliação química dos metabólitos de interesse, selecionou-se o fungo codificado como G1 PP8 para o prosseguimento deste estudo. A identificação molecular do fungo G1 PP8 foi realizada em parceria com a Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Leônidas e Maria Deane (FIOCRUZ). O fungo G1 PP8 foi identificado a nível de espécie como *Xylaria cubensis*. Este fungo possui uma homologia de 94% de identidade, sob número de acesso AB625361.1.

Conforme a Figura 12, *X. cubensis* G1 PP8 é um fungo filamentosos de micélio aéreo curto, de aspecto cottonoso, branco e verso de coloração branca. As análises realizadas pelo Laboratório de Química Aplicada à Tecnologia (EST/UEA) confirmam que o endófito em estudo pertence ao gênero *Xylaria*. A Figura 13 mostra a formação dos estromas em estágio anamorfo, característicos de *Xylaria*. Os estromas comportam as estruturas reprodutivas dos xylariáceos (Okane *et al.*, 2008; Sawadstitang *et al.*, 2015), e em *X. cubensis* assumem

coloração clara durante o estágio anamorfo (assexual), em ramos de formato lamelar, com altura entre 0,5 - 3 cm (Rogers, 1984; Van der Gucht, 1995). No estágio teleomorfo (sexual), eles apresentam coloração escura e formato clavado, com altura entre 1,5 - 10 cm (Rogers, 1984; Van der Gucht, 1995).

Xylaria cubensis é um fungo sapróbio que ocorre em regiões de clima tropical, subtropical e temperado, estando associado à decomposição de madeiras (Van der Gucht, 1995). É reportado na literatura que a sua forma endofítica ocorre em Rubiaceae (planta: *Saprosma longifolia*), além de famílias taxonômicas comuns em regiões de clima tropical e subtropical como Annonaceae, Celastraceae, Icacinaceae, Lauraceae, Myrsinaceae, Pteridaceae, Rutaceae, entre outras (Okane *et al.*, 2012). Em *Palicourea*, é muito comum a ocorrência de *Xylaria*, sendo encontrado em *P. elata*, *P. longiflora*, *P. marcgravii* (Cafêu *et al.*, 2005; Chapla *et al.*, 2013; Hinterdobler *et al.*, 2023; Souza *et al.*, 2004). Em estudo realizado pelo grupo de pesquisa, foi isolado o fungo *Xylaria* sp. de folhas de *P. corymbifera* (Silva *et al.*, 2020).

Estudos revelam que metabólitos provenientes de *X. cubensis* apresentam atividade anti-inflamatória, antimalárica, antimicrobiana e citotóxica (Fan *et al.*, 2014; Klaiklay *et al.*, 2012; Sawadsitang *et al.*, 2015), o que corrobora com os resultados observados nos ensaios preliminares do extrato deste microrganismo. Há dados sobre isolamento de substâncias como ácido cubênsico (**44**) (O'Hagan *et al.*, 1992), ácido xilacínico A-B (**45** e **46**) (Klaiklay *et al.*, 2012), citocalasina D (**15**) (Fan *et al.*, 2014; Klaiklay *et al.*, 2012; Sawadsitang *et al.*, 2015), ergosterol (**47**) (Sawadsitang *et al.*, 2015), griseofulvina (**18**) (Sica *et al.*, 2016), entre outras (Figura 14). Vale destacar que muitas das substâncias encontradas em *X. cubensis* foram isoladas do caldo metabólico (Fan *et al.*, 2014; Klaiklay *et al.*, 2012), o que sugere a investigação química e biológica do caldo metabólico do cultivo realizado neste estudo.

Figura 12 - Características macroscópicas do fungo endofítico *Xylaria cubensis* G1 PP8, isolado da hospedeira *P. prancei*

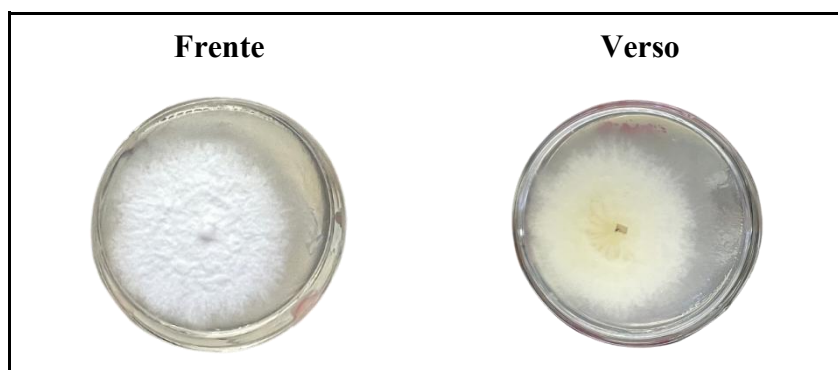
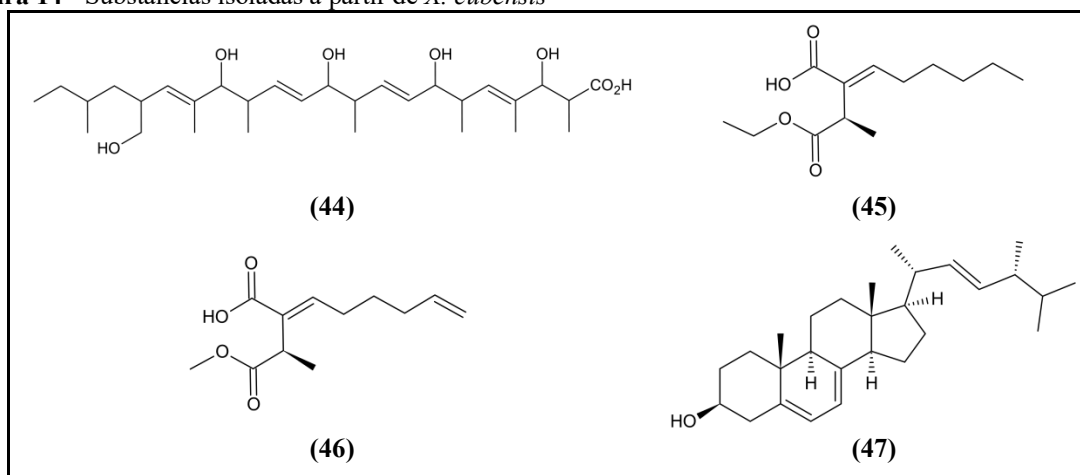


Figura 13 - Formação dos estromas do fungo *X. cubensis* G1 PP8



Imagens concedidas pelo Laboratório de Química Aplicada à Tecnologia (EST/UEA)

Figura 14 - Substâncias isoladas a partir de *X. cubensis*



Estruturas desenhadas no software ACD/ChemSketch (Freeware) 2023.1.0

5.5. Avaliação química dos metabólitos do fungo endofítico *Xylaria cubensis* G1 PP8

5.5.1. Rendimento do extrato MeOH e fase AcOEt do extrato MeOH

Após o cultivo em escala ampliada, o fungo endofítico *Xylaria cubensis* G1 PP8 produziu 315,40 g de massa micelial, que resultou em extrato MeOH com massa equivalente a 10,008 g, com rendimento de 3,2%. Realizando um comparativo entre o cultivo preliminar (1°) e o cultivo em escala ampliada (2°), observa-se que no segundo cultivo houve um aumento significativo da massa micelial e do extrato bruto, além de um pequeno aumento do percentual de rendimento, evidenciando que o escalonamento foi favorável (Tabela 14).

Há estudos com cultivo de *Xylaria* em diferentes meios de cultura, como em meio de arroz, de milho e em outras variações de fontes nutritivas (Amaral *et al.*, 2014; Cafêu *et al.*, 2005; Fathoni e Agusta, 2019; Sica *et al.*, 2016). Além de favorecer o rendimento da massa micelial e dos extratos, o estudo com diferentes meios de cultivo favorece a bioprospecção de novas moléculas, pois influencia diretamente no metabolismo do microrganismo, induzindo-os à produção de metabólitos de interesse. No estudo de Amaral *et al.* (2014), observou-se

que, em decorrência da disponibilidade de aminoácidos livres, o cultivo de *Xylaria arbuscola* em meio contendo trigo favoreceu a produção de citocalasina D, com rendimento equivalente a 39,55 mg/100 g.

Tabela 14 - Relação das massas dos extratos MeOH e fases obtidas a partir do extrato MeOH do cultivo em escala ampliada (2º cultivo) do fungo *X. cubensis* G1 PP8 e seus respectivos rendimentos

Cultivo	Massa micelial (g)	Extrato	Massa (g)	Rendimento (%)
1º	25,67	Extrato MeOH	0,738	2,9
		Extrato MeOH	10,008	3,2
2º	315,40	Fase AcOEt	0,895	0,3
		Fase hidrometanólica	9,571	3,0

5.5.2. Análise química do extrato MeOH e fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de *X. cubensis* G1 PP8

O extrato MeOH (**I**), a fase AcOEt do extrato MeOH (**II**) foram obtidas a partir da massa micelial do fungo *Xylaria cubensis* G1 PP8. Inicialmente, o extrato (**I**) foi eluído em fase móvel AcOEt/acetona (1:1), enquanto a fase (**II**) foi eluída em fase móvel DCM/MeOH (94:6). Outros sistemas foram empregados para avaliar a eluição das amostras frente aos reveladores cloreto férrico (FeCl_3) e reagente de Dragendorff, conforme ilustrado na Figura 15.

Em comparação às análises de CCDC do extrato oriundo do cultivo preliminar (**item 5.2.2**), o extrato MeOH da escala ampliada apresentou o mesmo perfil cromatográfico em relação ao inicial para todos os reveladores. Tanto o extrato quanto a fase apresentaram fluorescências nos reveladores físicos (UV 254 nm e 365 nm) e manchas na presença de vapores de iodo, sendo indícios de substância com ligações duplas e ligações duplas conjugadas. Frente ao cloreto de alumínio, em ambas as amostras, os cromóforos em 365 nm foram intensificados. Na revelação com anisaldeído sulfúrico e sulfato cérico, tanto o extrato quanto a fase apresentaram manchas rosadas e arroxeadas, sugerindo a presença de terpenos ou esteroides. Frente ao revelador cloreto férrico, a fase (**II**) apresentou bandas amarronzadas de baixa intensidade, sugerindo um baixo índice de substâncias fenólicas.

Na presença do revelador reagente de Dragendorff, em fase móvel AcOEt/acetona (1:1), o extrato MeOH revelou mancha alaranjada retida no ponto de aplicação. Para o mesmo revelador, em fase móvel DCM/MeOH 94:6, a fase AcOEt apresentou mancha retida e além

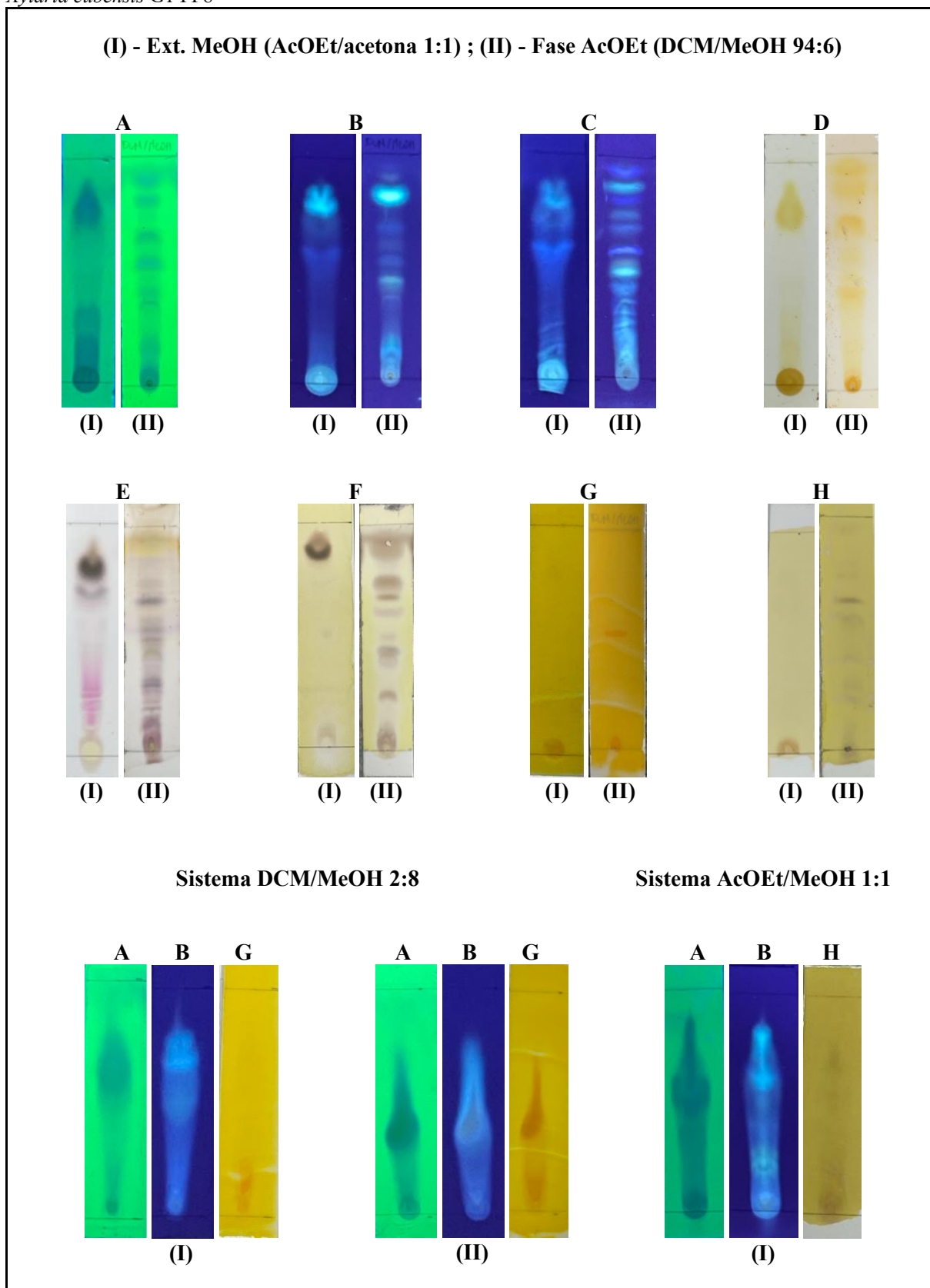
do ponto de origem. Ambas as amostras foram eluídas em fase móvel DCM/MeOH (2:8), e foi observado que as manchas foram eluídas para além do ponto de origem. Além disso, as manchas alaranjadas coincidem com as fluorescências nas luzes UV 254 nm e UV 365 nm. A presença de manchas alaranjadas em reagente de Dragendorff infere que as amostras contêm substâncias nitrogenadas, como alcaloides.

Em cloreto férrico e eluição em fase móvel AcOEt/acetona (1:1), o extrato **(I)** apresentou mancha marrom retida no ponto de aplicação. Em fase móvel AcOEt/MeOH (1:1), a mancha foi eluída para além do ponto de origem e as bandas amarronzadas coincidem com os cromóforos observados em luz UV 254 nm e 365 nm. Apesar disso, para ambas as amostras, as bandas reveladas em FeCl₃ não apresentaram coloração intensa, sendo possível inferir que o extrato e a fase exibem baixo indício de substâncias fenólicas.

A fase hidrometanólica (Figura 16) foi eluída em fase móvel AcOEt/acetona 1:1. A fase apresentou cromóforos nas luzes UV 254 nm e 365 nm, assim como revelou mancha no ponto de aplicação frente ao revelador vapor de iodo e ao anisaldeído sulfúrico. A amostra não revelou em FeCl₃ e em reagente de Dragendorff, inferindo ausência de substâncias fenólicas e nitrogenadas. Em comparação à fase AcOEt, a fase hidrometanólica não exibiu variedade de moléculas, e isso ocorreu pois a amostra é polar e possui afinidade pela fase estacionária (sílica), que também é polar. Um modo de analisar adequadamente as substâncias presentes na fase hidrometanólica seria realizando cromatografia de fase reversa, pois assim os metabólitos não ficariam retidos no adsorvente. No entanto, a fase hidrometanólica indicou ausência de substâncias de interesse como alcaloides, terpenos e substâncias fenólicas, conforme expresso na Tabela 15.

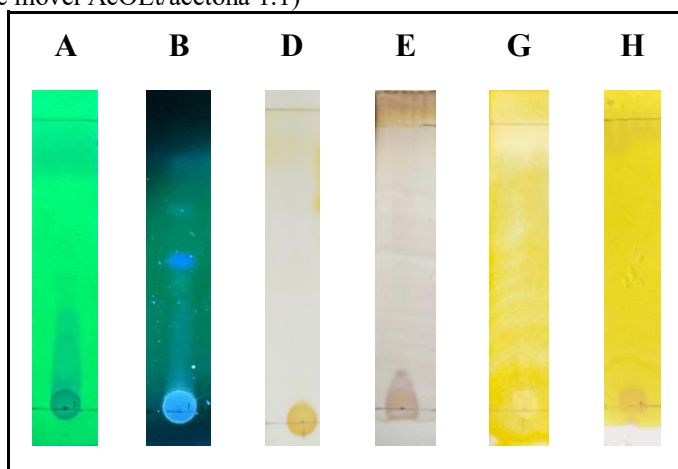
A partir das análises em CCD, observa-se que a fase AcOEt do extrato MeOH expressou maior riqueza de metabólitos em comparação ao extrato MeOH e à fase hidrometanólica, ou seja, a partição líquido-líquido foi capaz de extrair moléculas mais apolares presentes no extrato bruto. Por isso, a fase AcOEt mostrou-se interessante para a realização do fracionamento das substâncias.

Figura 15 - Cromatoplasas do extrato MeOH (I) e da fase AcOEt do extrato MeOH (II) dos micélios do fungo *Xylaria cubensis* G1 PP8



Reveladores físicos UV 254 nm (A), UV 365 nm (B); reveladores químicos cloreto de alumínio (AlCl_3) em UV 365 nm (C), vapor de iodo (D), anisaldeído sulfúrico (E), sulfato cérico ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) (F), reagente de Dragendorff (G), cloreto férrico (FeCl_3) (H)

Figura 16 - Cromatoplasas da fase hidrometanólica do extrato MeOH dos micélios do fungo *Xylaria cubensis* G1 PP8 (eluição em fase móvel AcOEt/acetona 1:1)



Reveladores físicos UV 254 nm (A), UV 365 nm (B); reveladores químicos vapor de iodo (D), anisaldeído sulfúrico (E), reagente de Dragendorff (G), cloreto férrico (FeCl₃) (H)

Tabela 15 - Classes químicas dos extratos MeOH, fase AcOEt e hidrometanólica do extrato MeOH dos micélios de *X. cubensis* G1 PP8

Nº	Amostra	Duplas ligações	Alcaloides	Terpenos	Substâncias Fenólicas
1	Extrato MeOH	+	+	+	+
2	Fase AcOEt	+	+	+	+
3	Fase hidrometanólica	+	-	-	-

(+): presença de manchas; (-): ausência de mancha

Em relação aos dados obtidos por RMN de ¹H, o extrato MeOH apresentou sinais de hidrogênios de hidrocarbonetos saturados (entre δ_H 0,84 e 2,78), hidrogênios de carbonos carbinólicos (entre δ_H 3,13 e 4,24) e hidrogênios vinílicos (entre δ_H 5,30 e 6,39) (Figura 17). O extrato também apresentou sinais característicos de hidrogênios ligados a heteroátomos, entre δ_H 5,0 e 8,0, bem como hidrogênios aromáticos entre δ_H 7,21 e 8,34 (Figura 18).

Ao comparar os espectros de ¹H do extrato MeOH e da fase AcOEt do extrato MeOH do micélio do fungo *X. cubensis* G1 PP8, nota-se que a fase AcOEt apresentou deslocamentos químicos muito similares aos apresentados no extrato bruto, evidenciando a presença de hidrogênios ligados a heteroátomos e hidrogênios aromáticos (Figura 18). Além disso, observa-se a presença de um sinal intenso em 1,25 ppm, correspondente a hidrogênios metilênicos de substâncias alifáticas de cadeia linear longa (“graxa”) (Gomes, 2024). Ademais, os deslocamentos químicos observados em ambas as amostras corroboram para as análises de CCDC, que revelaram substâncias com ligações duplas e ligações duplas conjugadas, bem como a presença de substâncias nitrogenadas.

Figura 17 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) do extrato MeOH (em azul; $\text{DMSO}-d_6$) e da fase AcOEt (em vermelho; CDCl_3) do extrato MeOH dos micélios do fungo *X. cubensis* G1 PP8

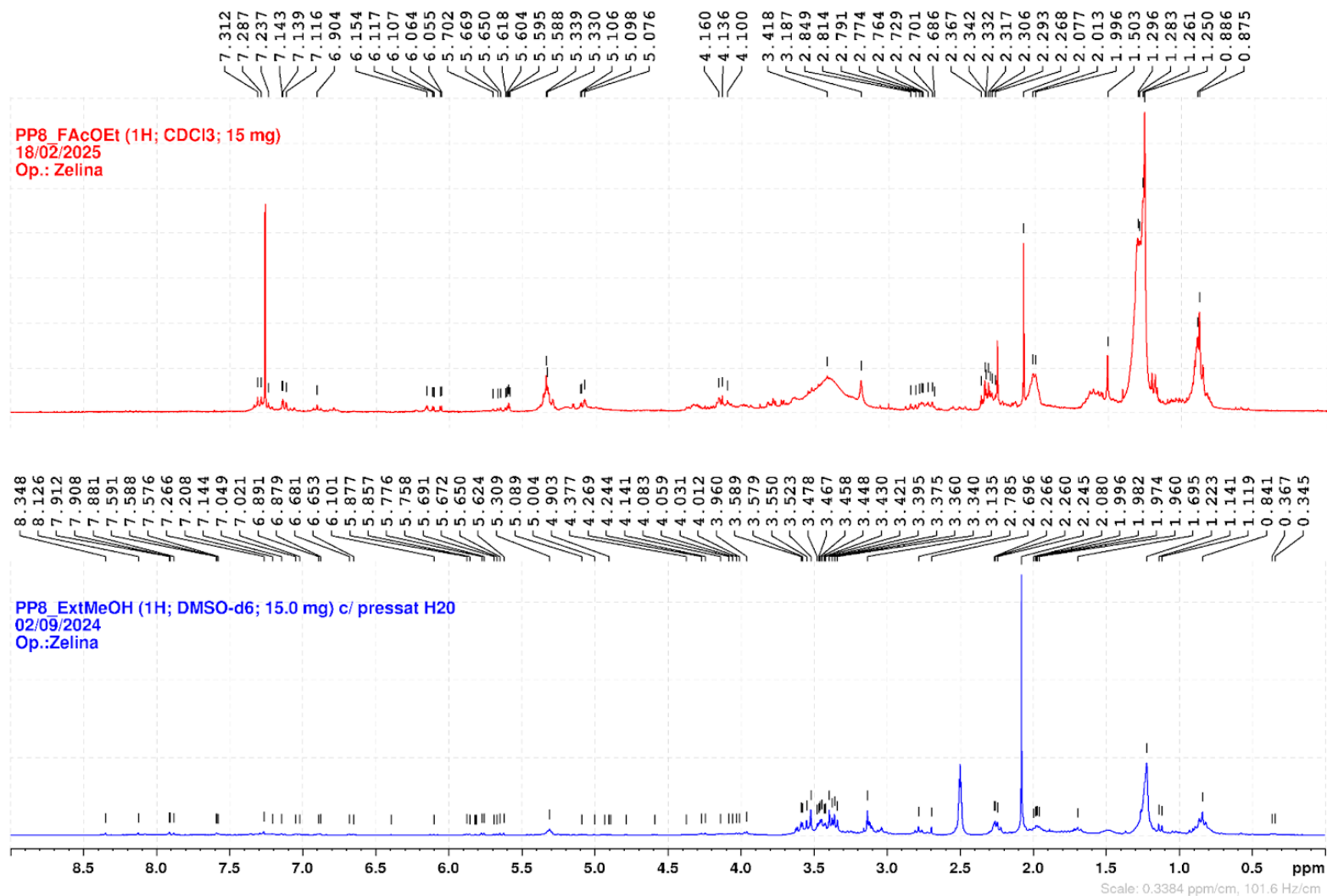
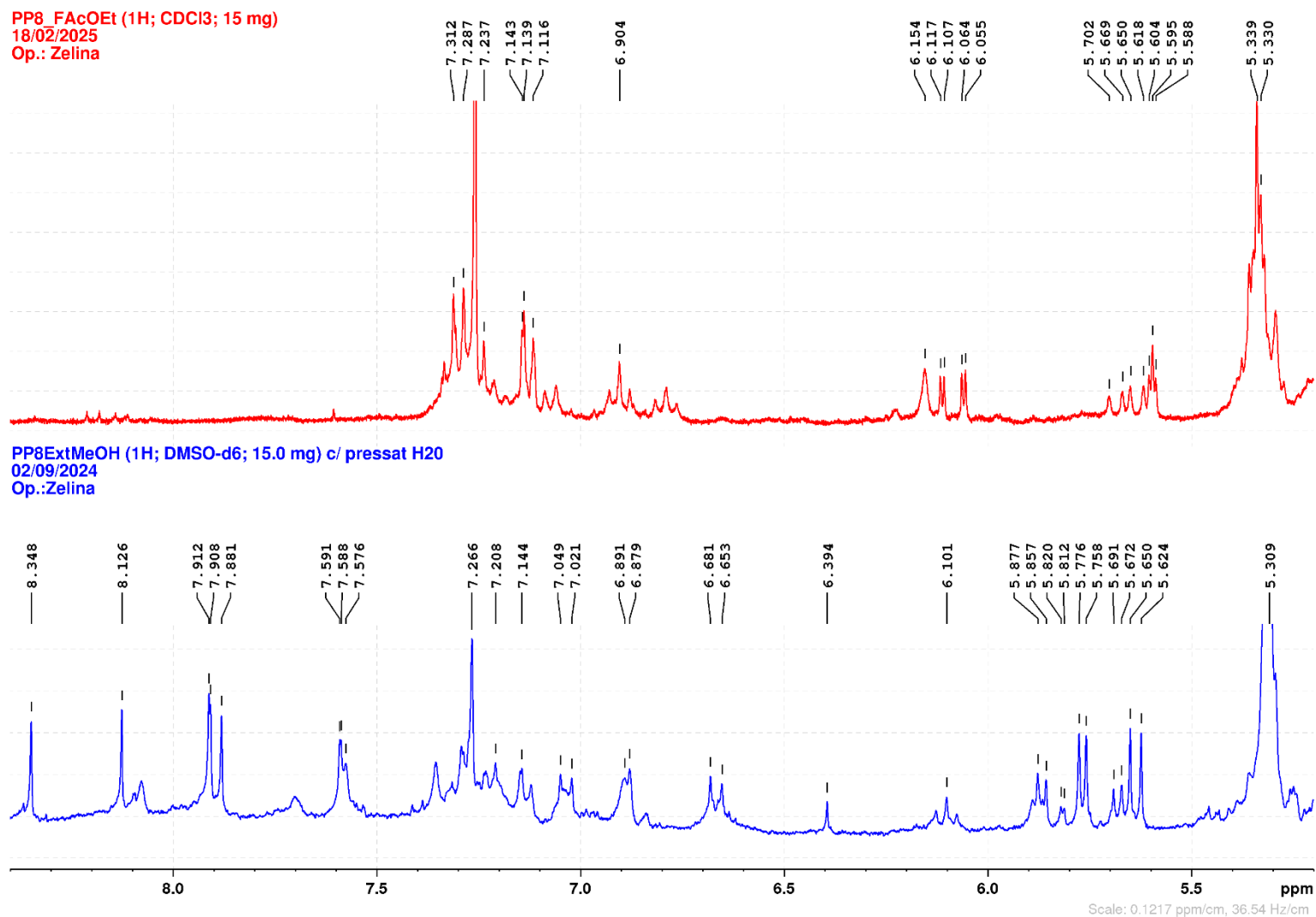


Figura 18 - Ampliação da região entre 5,20 a 8,40 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz) do extrato MeOH (em azul; $\text{DMSO-}d_6$) e da fase AcOEt (em vermelho; CDCl_3) dos micélios do fungo *X. cubensis* G1 PP8



5.5.3. Análise química das frações oriundas do fracionamento da fase AcOEt do extrato MeOH

O fracionamento da fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de *X. cubensis* G1 PP8 originou 65 frações no total, as quais foram analisadas em CCDC (reveladores físicos e químicos). Das frações obtidas, F17 (6,5 mg), F18 (43,4 mg), F19 (31,6 mg) e F20 (7,7 mg) apresentaram similaridades quando observadas sob luz UV (254 e 365 nm) e em revelador anisaldeído sulfúrico (Figura 19), eluição em fase móvel DCM/MeOH 98:2. As frações indicaram presença de substâncias com ligações duplas e ligações duplas conjugadas ao revelarem cromóforos frente aos reveladores físicos, além de manchas arroxeadas frente ao anisaldeído sulfúrico, manchas essas que coincidem com as bandas observadas em UV 254 e 365 nm. Além disso, F18, F19 e F20 apresentaram-se como sólido amorfo de coloração branca (Figura 20). Devido a essas similaridades e às características das frações após secagem, F17-20 (88,6 mg) foram reunidas para um novo fracionamento.

Figura 19 - CCDC das frações F17-20, eluídas em fase móvel DCM/MeOH 98:2

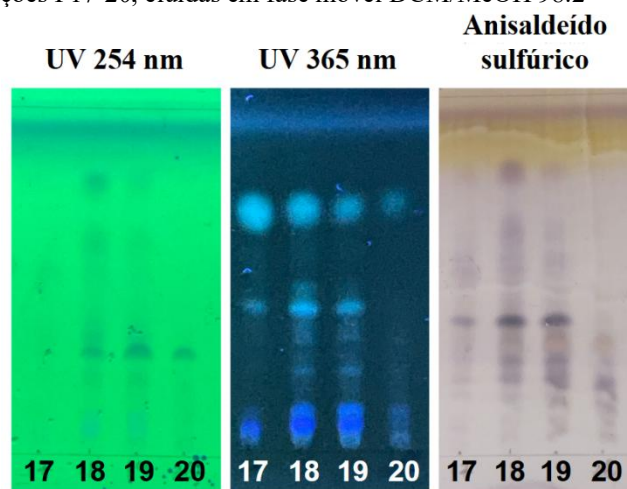
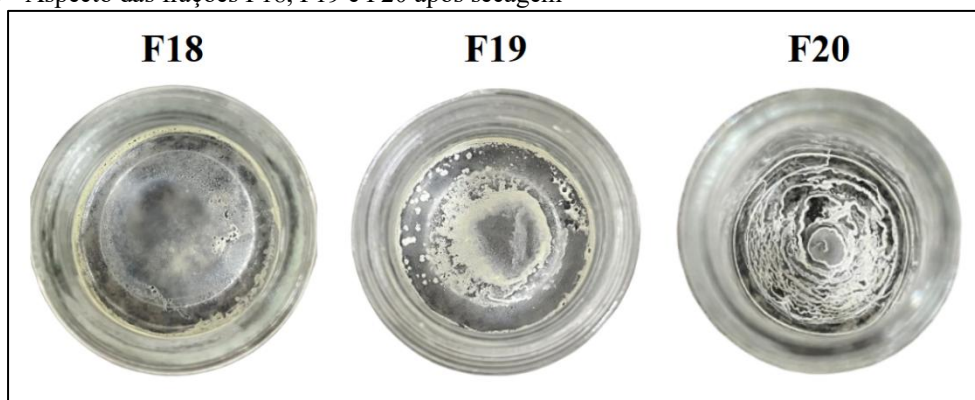


Figura 20 - Aspecto das frações F18, F19 e F20 após secagem



O fracionamento de F17-20 resultou em 18 frações no total. Após as análises em CCDC (elução em fase móvel DCM/MeOH 95:5), as frações F5 (36,2 mg), F6 (1,9 mg) e F7 (3,1 mg) mostraram-se similares frente à luz UV (254 e 365 nm) e aos reveladores químicos anisaldeído sulfúrico e reagente de Dragendorff, indicando a presença de substâncias nitrogenadas ao revelarem manchas alaranjadas ($R_{f1} = 0,50$; $R_{f2} = 0,60$) (Figura 21). Além disso, essas frações se apresentaram na forma de cristais brancos após secagem (Figura 22). Por conta das similaridades observadas, as frações F6-7 (5 mg) foram reunidas, e tanto elas quanto F5 foram enviadas para análises de RMN uni e bidimensionais.

Figura 21 - CCDC das frações F5 e F6-7, eluídas em fase móvel DCM/MeOH 95:5

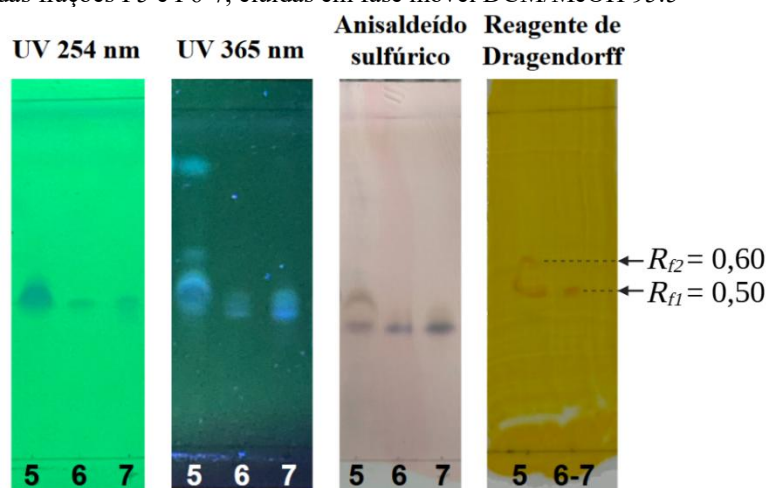


Figura 22 - Aspecto dos cristais brancos das frações F5 e F6-7



5.6. Identificação estrutural da substância isolada

A substância **1** foi isolada na fração F6-7, oriunda da fase AcOEt do extrato micelial MeOH do fungo *X. cubensis* G1 PP8, sendo identificada como citocalasina D (Figura 23). A citocalasina D se apresentou na forma de cristais brancos, conforme observado na Figura 22. A partir das análises em CCDC, com eluição em sistema DCM/MeOH 95:5, tanto a fração

F6-7, quanto a fração F5, revelaram coloração alaranjada frente ao reagente de Dragendorff ($R_{f1} = 0,50$; $R_{f2} = 0,60$) (Figura 21).

Os dados de espectrometria de massas de alta resolução (ESI+) evidenciaram como pico base o íon com m/z 508,2693, o qual foi confirmado pela presença do aduto de sódio $[M+Na]^+$ com m/z 530,2518, além de duas fragmentações de m/z 490,2587 e 430,2587, que correspondem à perda de água e de ácido acético, respectivamente (Figura 24). O cálculo resultou em m/z 508,2689, correspondente à $C_{30}H_{38}NO_6$, corroborando com a estrutura identificada de fórmula molecular $C_{30}H_{37}NO_6$. A partir da fórmula molecular, foi possível calcular o índice de deficiência de hidrogênio, que foi equivalente a 13, sendo correspondente aos dados de RMN que indicam a presença de 3 carbonilas, 3 ligações duplas, 1 anel aromático e 3 ciclos. Após comparação dos dados obtidos a partir de RMN uni e bidimensionais, espectrometria de massas e comparação com a literatura, a substância 1 foi identificada como citocalasina D.

Os dados de RMN de 1H (Figura 25) e suas ampliações (Figura 26, Figura 27 e Figura 28) indicam que a amostra F5 é uma fração rica em citocalasina D, enquanto que F6-7 corresponde à substância. Os espectros de RMN de 1H das frações F5 e F6-7 apresentaram sinais de hidrogênios alifáticos saturados (entre δ_H 0,37 e 2,77), hidrogênios de carbonos carbinólicos (entre δ_H 3,50 e 5,88) e hidrogênios olefinicos (entre δ_H 5,10 e 5,85). O extrato também apresentou sinais característicos de hidrogênios ligados a heteroátomos, entre δ_H 4,50 e 8,07, bem como hidrogênios aromáticos entre δ_H 7,12 e 7,31.

As análises bidimensionais da substância 1 foram realizadas por COSY (Figura 32), HSQC (Figura 30) e HMBC (Figura 34). A associação entre os átomos de hidrogênio (Figura 25) diretamente ligados aos átomos de carbono (Figura 29) foi realizada de acordo com o mapa de correlações HSQC, conforme expresso na Figura 31. Os sinais δ_H 0,37 (d , $J = 6,6$ Hz, 3H), 1,04 (d , $J = 6,73$ Hz, 3H), 1,37 (s , 3H) e 2,27 (s , 3H) são de hidrogênios metílicos dos carbonos δ_C 12,8 (C-11), 19,3 (C-22), 24,6 (C-23) e 20,5 (C-25), respectivamente. Segundo Cafêu *et al.* (2005), o sinal δ_H 2,27 é “típico de citocalasina com um grupo acetato na forma de radical”. Os hidrogênios em δ_H 7,14 (H-2' e H-6': m , 2H), 7,24 (H-4': m , 1H) e 7,30 (H-3' e H-5': m , 2H) correspondem a hidrogênios de anel aromático, estando associados aos carbonos δ_C 129,6 (C-3' e C-5'), 126,5 (C-4') e 128,3 (C-2' e C-6'), respectivamente.

O duplete em δ_H 4,56 e os singletos em δ_H 4,95 e em δ_H 8,07 não estão associados a nenhum carbono, conforme o mapa de correlações HSQC. Sendo assim, os sinais δ_H 4,56 e δ_H

Figura 24 - Espectro de massas de alta resolução (ESI+) da citocalasina D

Analysis Info		Acquisition Date 10/14/2024 3:32:21 PM	
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2024\Cecilia\Data\Karyne\11-10-2024\ESI+MS2_F517-20P8_10-100_30m_1-11_01_5590.d		
Method	LC-MS2_ESI+_50-1200_30min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ESI+MS2_F517-20P8_10-100_30m	Instrument	micrOTOF-Q

Meas. m/z	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
430.2370	C28H32NO3	430.2377	1.6	4.5	100.00
490.2587	C30H36NO5	490.2588	0.3	2.1	100.00
508.2693	C30H38NO6	508.2694	0.0	4.1	100.00
530.2518	C30H37NNaO6	530.2513	-0.9	5.2	100.00

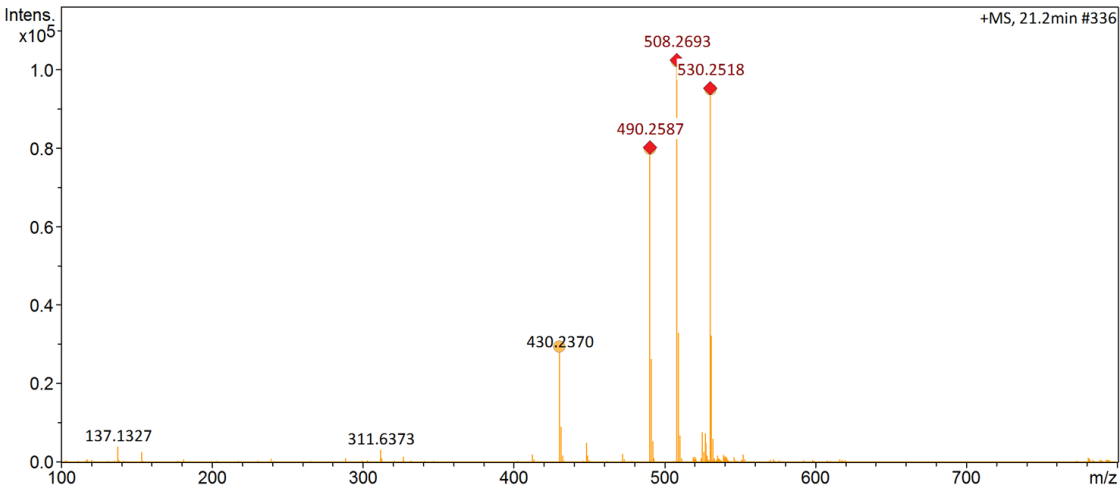
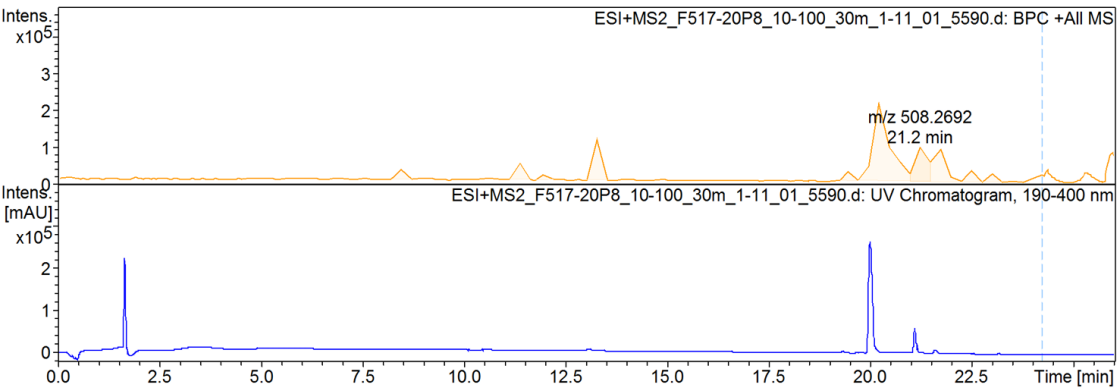


Tabela 16 - Dados de RMN de ^1H , ^{13}C HMBC e COSY da citocalasina D (em $\text{DMSO-}d_6$: 300 MHz (^1H), 75 MHz (^{13}C)) e comparação com a literatura (em $\text{DMSO-}d_6$: 500 MHz (^1H), 125 MHz (^{13}C))

Posição	Dados dos espectros				Dados da literatura ^a	
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	HMBC	COSY	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)
1	173,6	-	-	-	173,6	-
2 (NH)	-	8,07 (s, 1H)	C 47,8 - C 53,1	NH	-	8,03 (s, 1H)
3	52,5	3,09 (m, 1H)	-	H 2,55 - H 2,80	52,5	3,11 (m, 1H)
4	47,4	1,97 (dd, $J = 4,9$; 2,1 Hz, 1H)	C 76,8 - C 150,7	-	47,5	1,98 (dd, $J = 5,5$; 2,5 Hz, 1H)
5	31,5	2,49 (m, 1H)	-	H 0,37	31,5	2,49 (m, 1H)
6	150,7	-	-	-	150,7	-
7	70,2	3,56 (dd, $J = 10,3$; 5,75 Hz, 1H)	-	H 2,70 - H 4,56	70,1	3,57 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H)
8	46,1	2,70 (dd, $J = 10,0$; 10,0 Hz 1H)	C 53,1 - C 70,2 - C 131,6 - C 173,6	H 3,56 - H 5,41	46,1	2,69 (dd, $J = 10,0$; 10,0 Hz, 1H)
9	53,1	-	-	-	53,1	-

Posição	Dados dos espectros				Dados da literatura ^a	
	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	HMBC	COSY	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)
10a	43,6	2,55 (<i>m</i> , 1H)	C 129,6 - C 137,1	H 2,80 - H 3,09	43,6	2,55 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 13,0; 8,5 Hz, 1H)
10b		2,80 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 12,8; 4,9 Hz, 1H)	C 129,6 - C 137,1	H 2,55 - H 3,09		2,81 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 13,0; 5,0 Hz, 1H)
11	12,8	0,37 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,6 Hz; 3H)	C 31,5 - C 47,4 - C 150,7	H 2,49	12,8	0,39 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,5 Hz, 3H)
12a	111,5	4,79 (<i>s</i> , 1H)	C 31,5 - C 70,2	-	111,5	4,81 (<i>s</i> , 1H)
12b		5,01 (<i>s</i> , 1H)	C 31,5 - C 70,2	-		5,03 (<i>s</i> , 1H)
13	130,8	5,41 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 15; 9 Hz, 1H)	-	H 2,70	130,8	5,42 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 15,0; 10,0 Hz, 1H)
14	131,6	5,10 (<i>ddd</i> , <i>J</i> = 15; 10; 4,8 Hz, 1H)	-	H 5,85	131,6	5,08 (<i>ddd</i> , <i>J</i> = 15,0; 6,0; 10,0 Hz, 1H)
15a	37,9	1,90 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 12,5; 4,7 Hz, 1H)	-	H 2,17	37,9	1,89 (<i>ddl</i> , <i>J</i> = 12,5; 4,5 Hz, 1H)
15b		2,17 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 15,8; 2,25 Hz, 1H)	-	H 1,90		2,15 (<i>m</i> , 1H)
16	41,5	2,75 (<i>m</i> , 1H)	-	H 1,04	41,4	2,75 (<i>m</i> , 1H)

Posição	Dados dos espectros				Dados da literatura ^a	
	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	HMBC	COSY	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)
17	209,9	-	-	-	209,9	-
18	77,5	-	-	-	77,4	-
19	127,0	5,15 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 15,9; 2,16 Hz, 1H)	C 77,5	H 5,85	126,9	5,12 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 15,0; 2,0 Hz, 1H))
20	132,2	5,85 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 15,9; 2,2 Hz, 1H)	C 77,5	H 5,15	132,1	5,86 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 15,0; 2,0 Hz, 1H)
21	76,8	5,26 (<i>t</i> , <i>J</i> = 2,37 Hz, 1H)	C 46,1 - C 132,2 - C 170,0	-	76,4	5,26 (<i>t</i> , <i>J</i> = 2,0; 1H)
22	19,3	1,04 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,73 Hz, 3H)	C 37,9 - C 41,5 - C 209,9	H 2,75	19,2	1,05 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,0 Hz, 3H)
23	24,6	1,37 (<i>s</i> , 3H)	C 77,5 - C 127,0 - C 209,9	-	24,5	1,38 (<i>s</i> , 3H)
24	170,0	-	-	-	169,9	-
25	20,5	2,27 (<i>s</i> , 3H)	C 170,0	-	21,8	2,27 (<i>s</i> , 3H)
1'	137,1	-	-	-	137,1	-
2' e 6'	129,6	7,14 (<i>m</i> , 2H)	C 43,6 - C 126,5	H 7,30	129,6	7,15 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H)

Posição	Dados dos espectros				Dados da literatura ^a	
	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	HMBC	COSY	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)
3' e 5'	128,3	7,30 (<i>m</i> , 2H)	C 137,1	H 7,14	128,3	7,30 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H)
4'	126,5	7,24 (<i>m</i> , 1H)	C 129,6	-	126,4	7,22 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H)

^a Substâncias antifúngicas de *Xylaria sp.*, um fungo endofítico isolado de *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) (Cafêu *et al.* 2005)

Deslocamento químico em ppm, constantes de acoplamento em Hz.

s (singleto), *d* (duplete), *t* (triplete), *dd* (duplo dublete), *ddd* (duplo duplo duplete), *m* (multiplete)

Figura 25 - Espectro de RMN de ^1H da citocalasina D nas frações F5 (vermelho) e F6-7 (azul) (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)

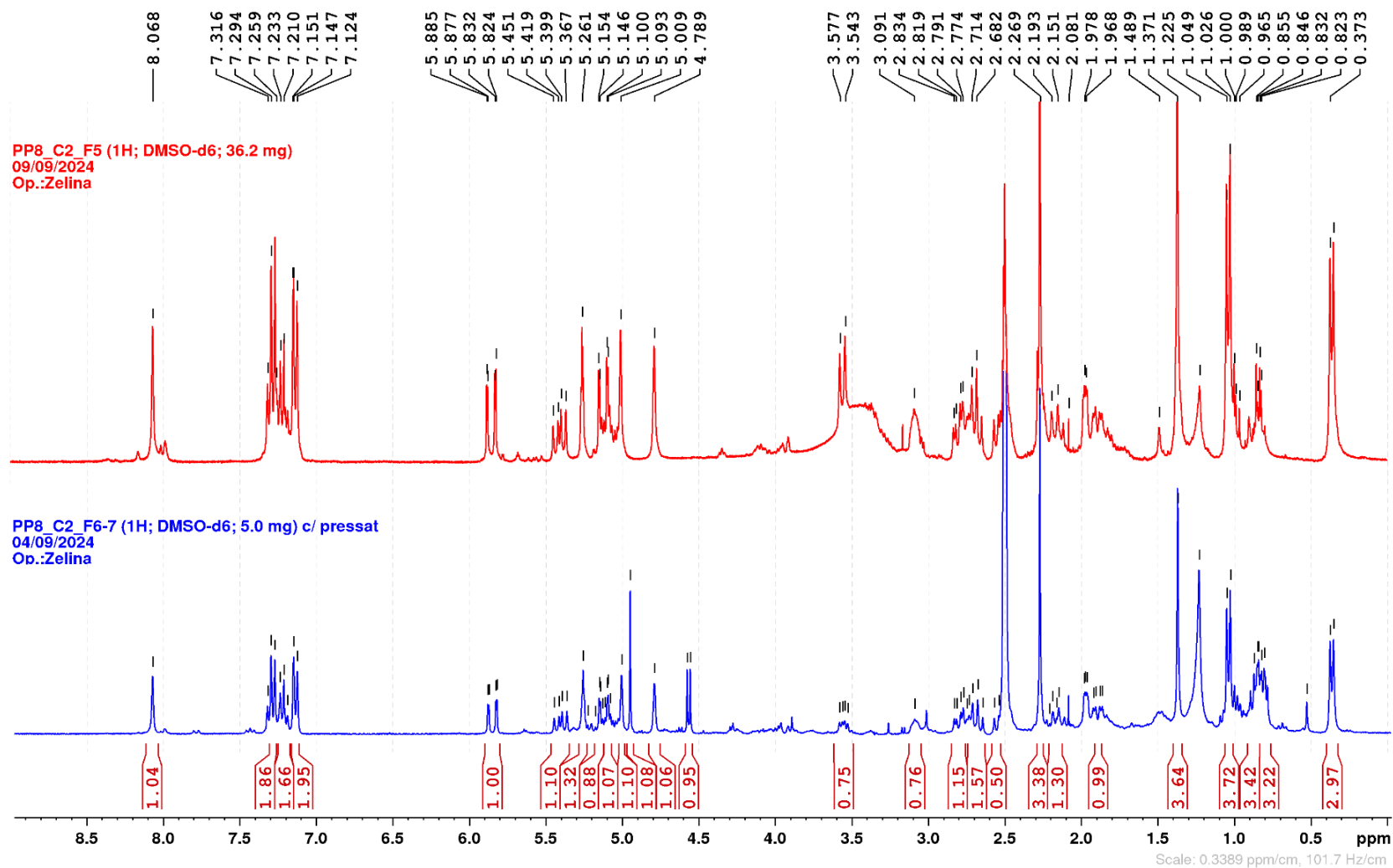


Figura 26 - Ampliação da região entre 0,2 e 2,9 ppm do espectro RMN de ^1H da citocalasina D nas frações F5 (vermelho) e F6-7 (azul) (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)

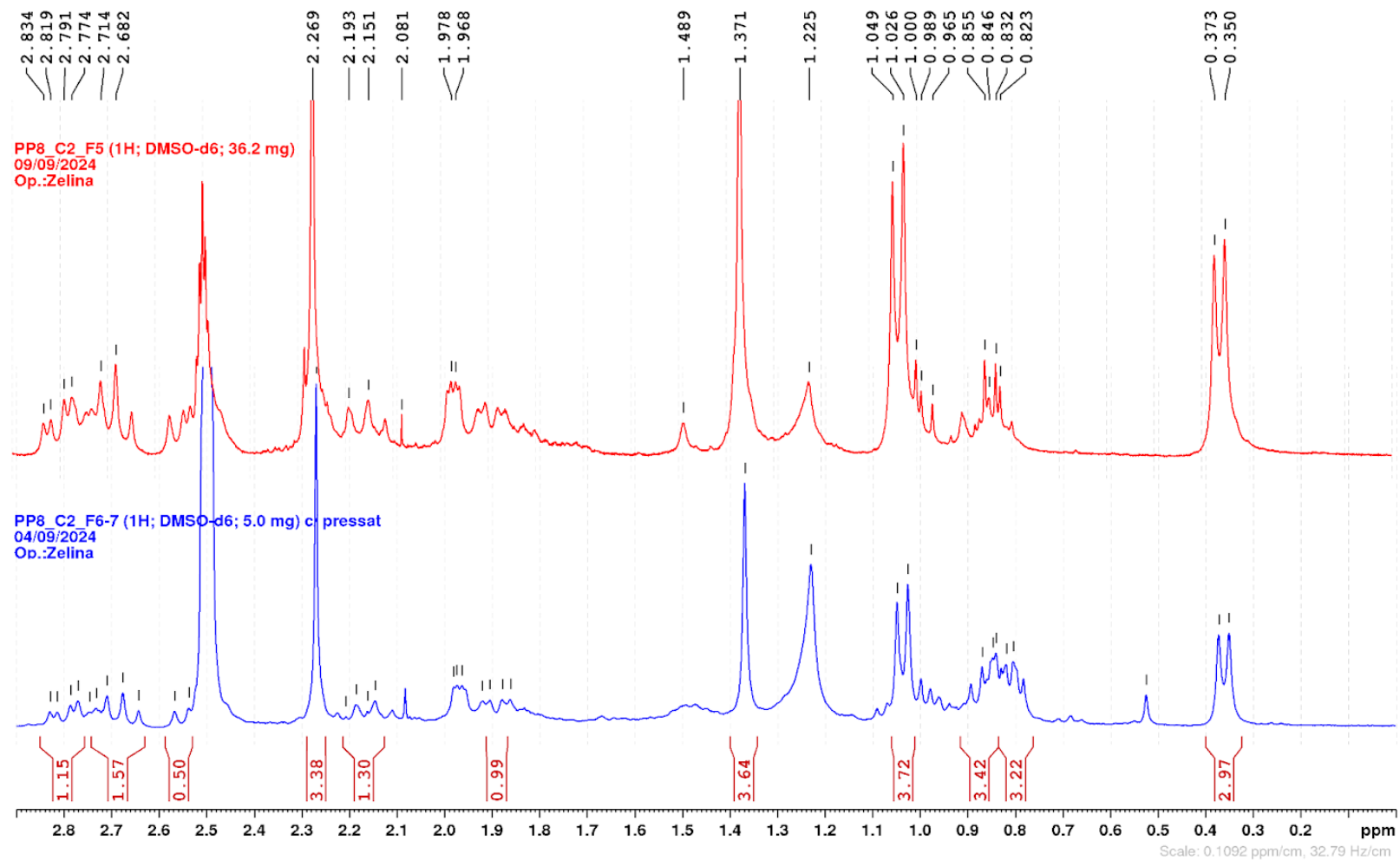


Figura 27 - Ampliação da região entre 2,9 e 5,7 ppm do espectro de RMN de ^1H da citocalasina D nas frações F5 (vermelho) e F6-7 (azul) (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)

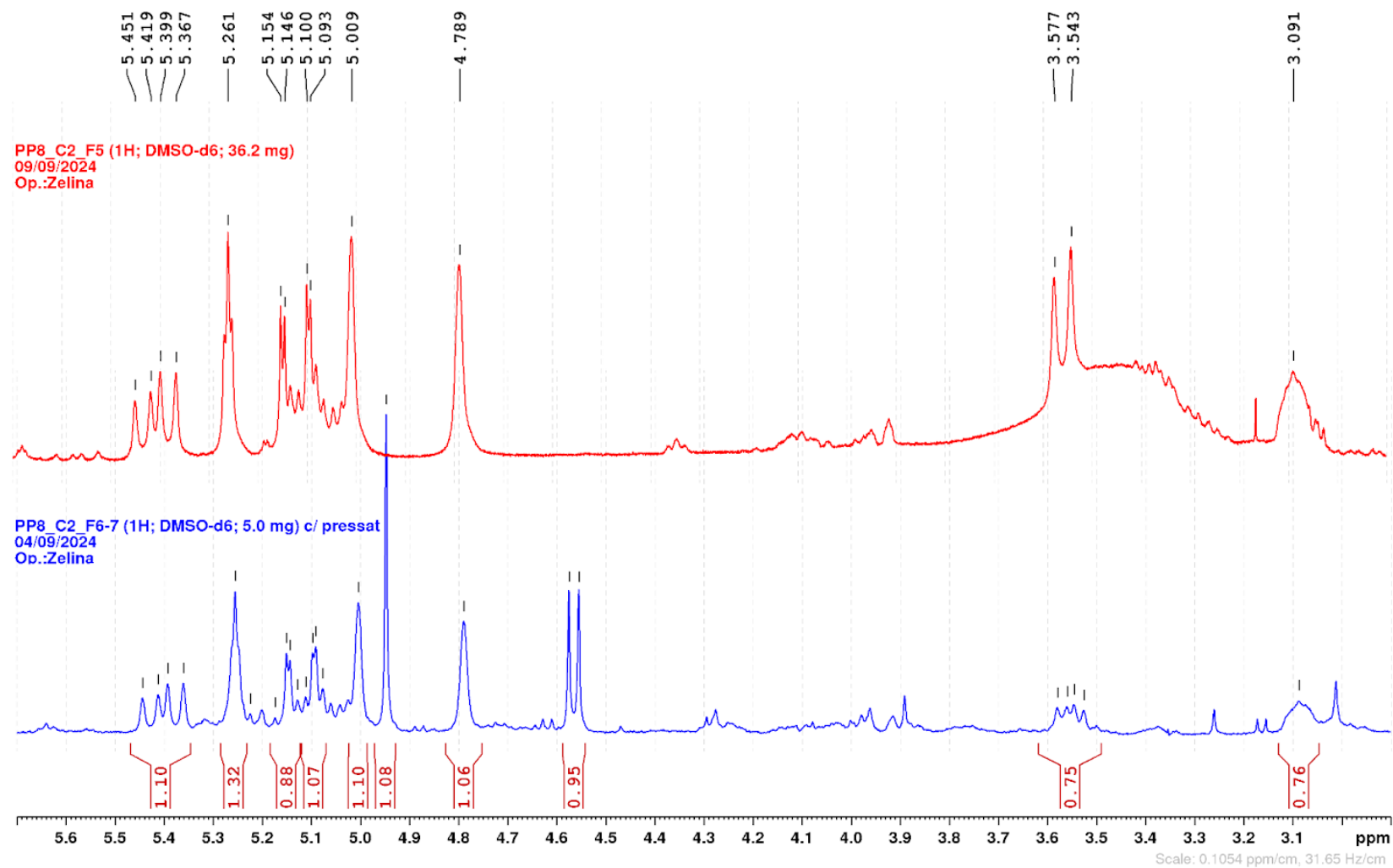


Figura 28 - Ampliação da região entre 5,7 e 9,0 ppm do espectro de RMN de ^1H da citocalasina D nas frações F5 (vermelho) e F6-7 (azul) (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)

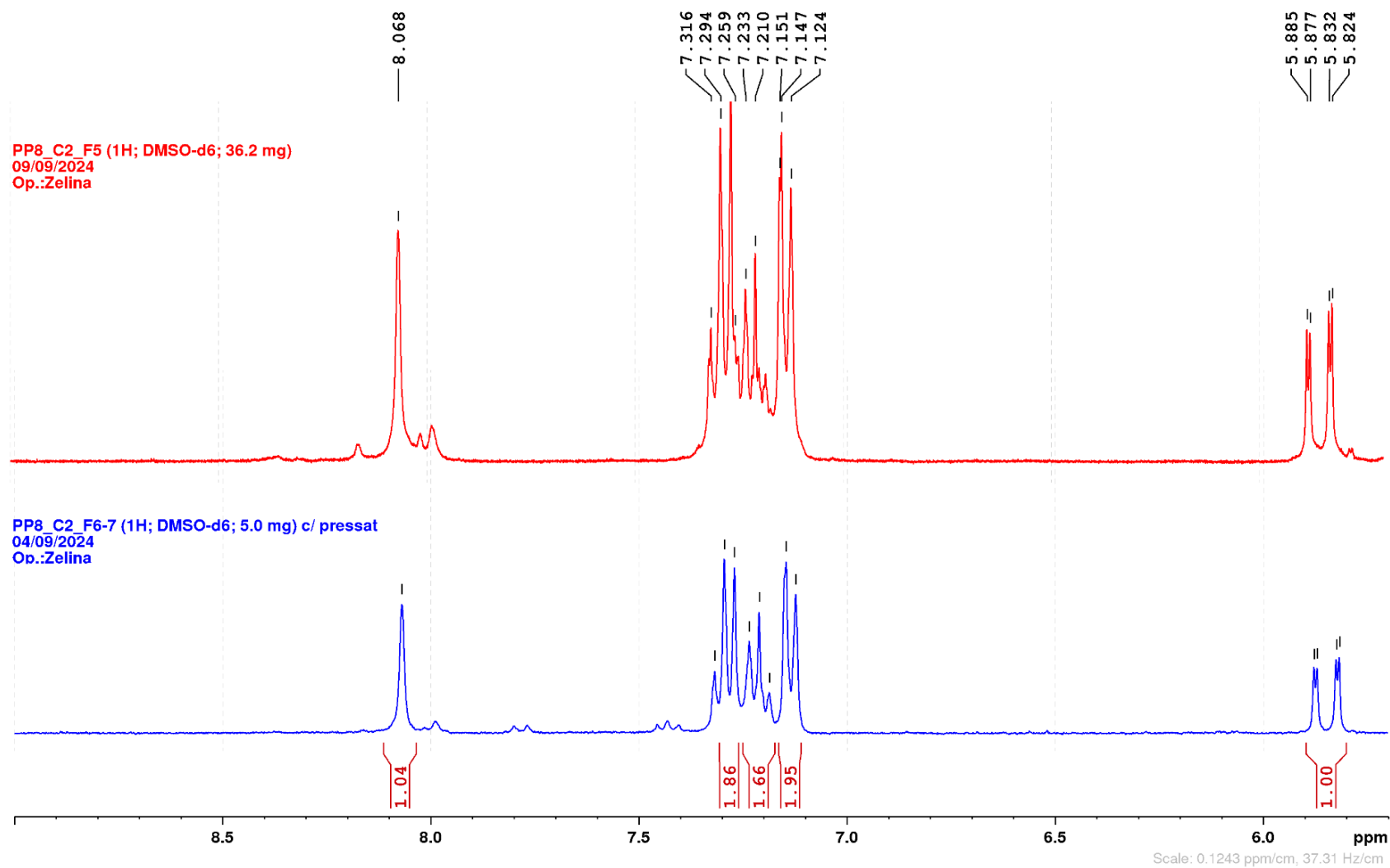


Figura 29 - Espectro de RMN de ^{13}C da citocalasina D (^{13}C , 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)

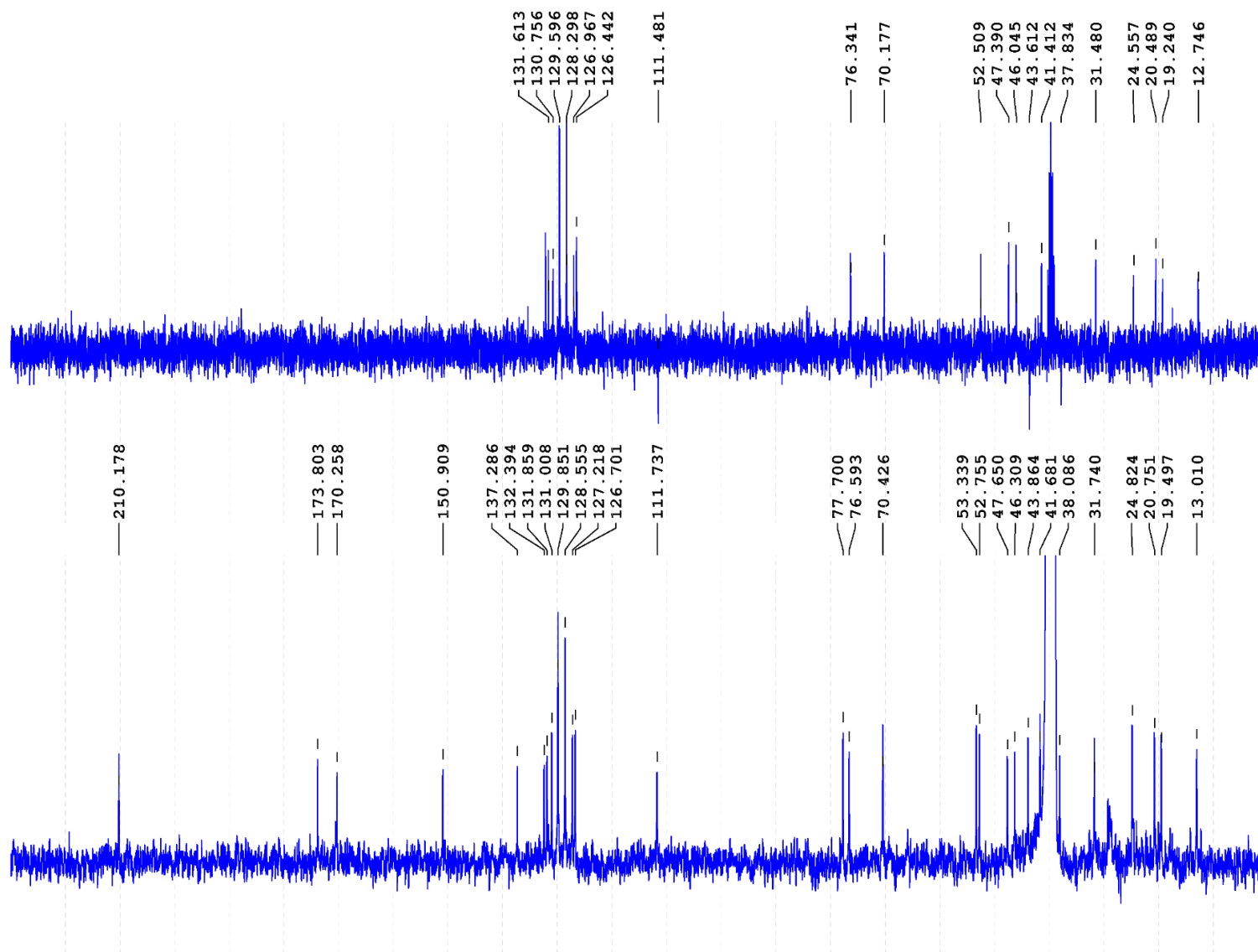


Figura 30 - Mapa de correlação HSQC da citocalasina D (^1H : 300 MHz, ^{13}C , 75 MHz; $\text{DMSO-}d_6$)

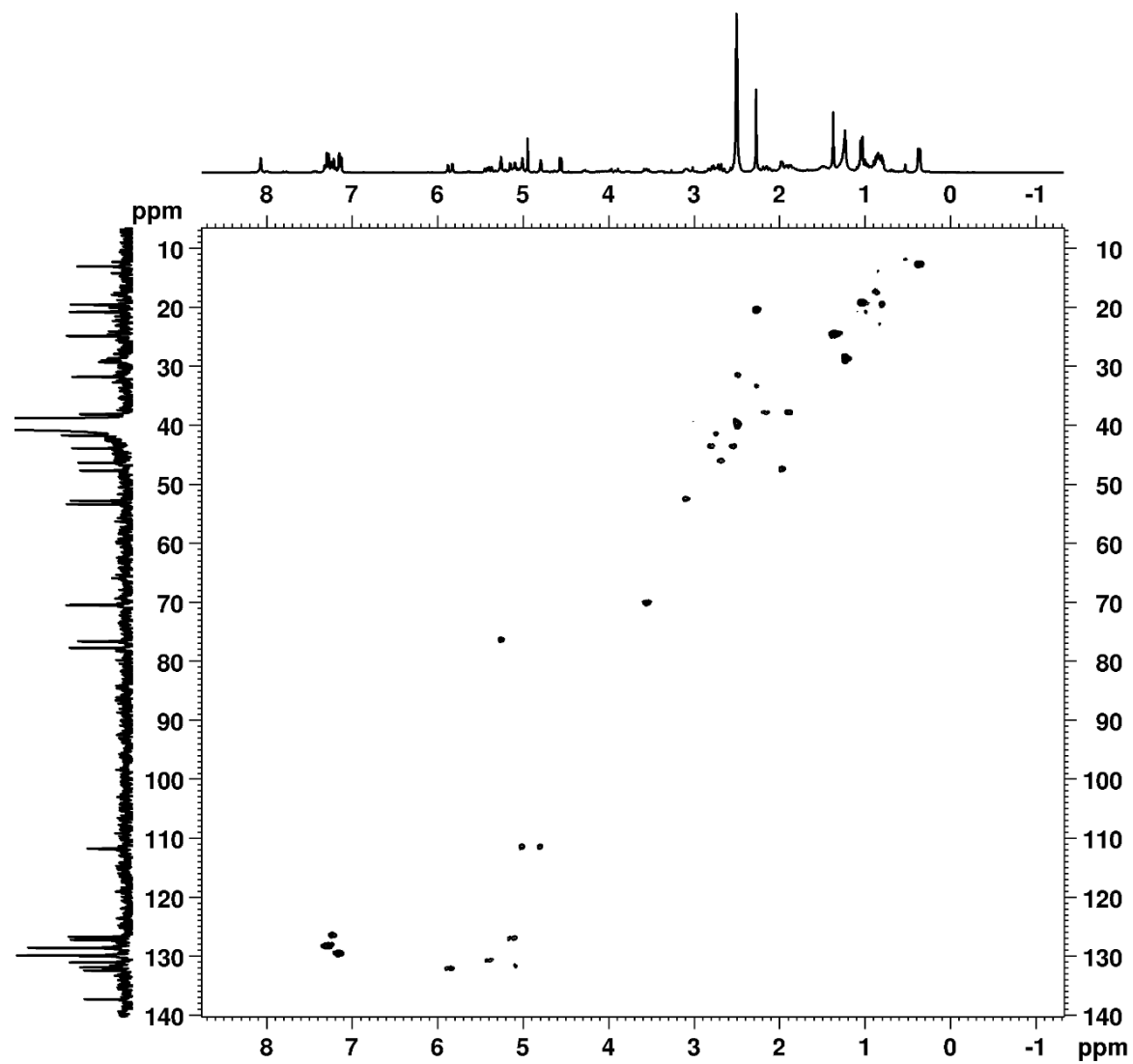


Figura 31 - Ampliação do mapa de correlação HSQC da citocalasina D (^1H , 300 MHz, ^{13}C , 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)

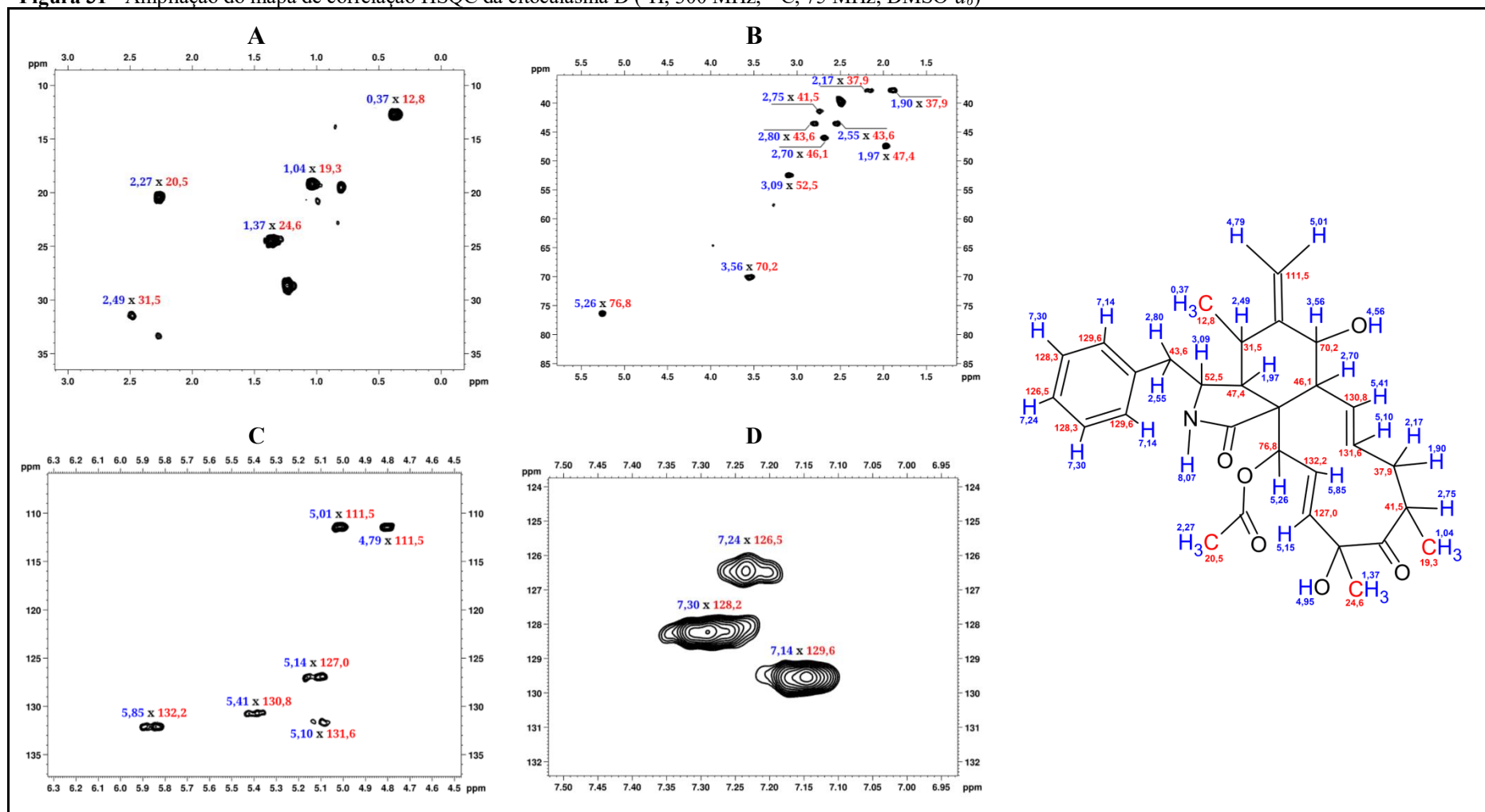


Figura 32 - Mapa de correlação COSY da citocalasina D (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)

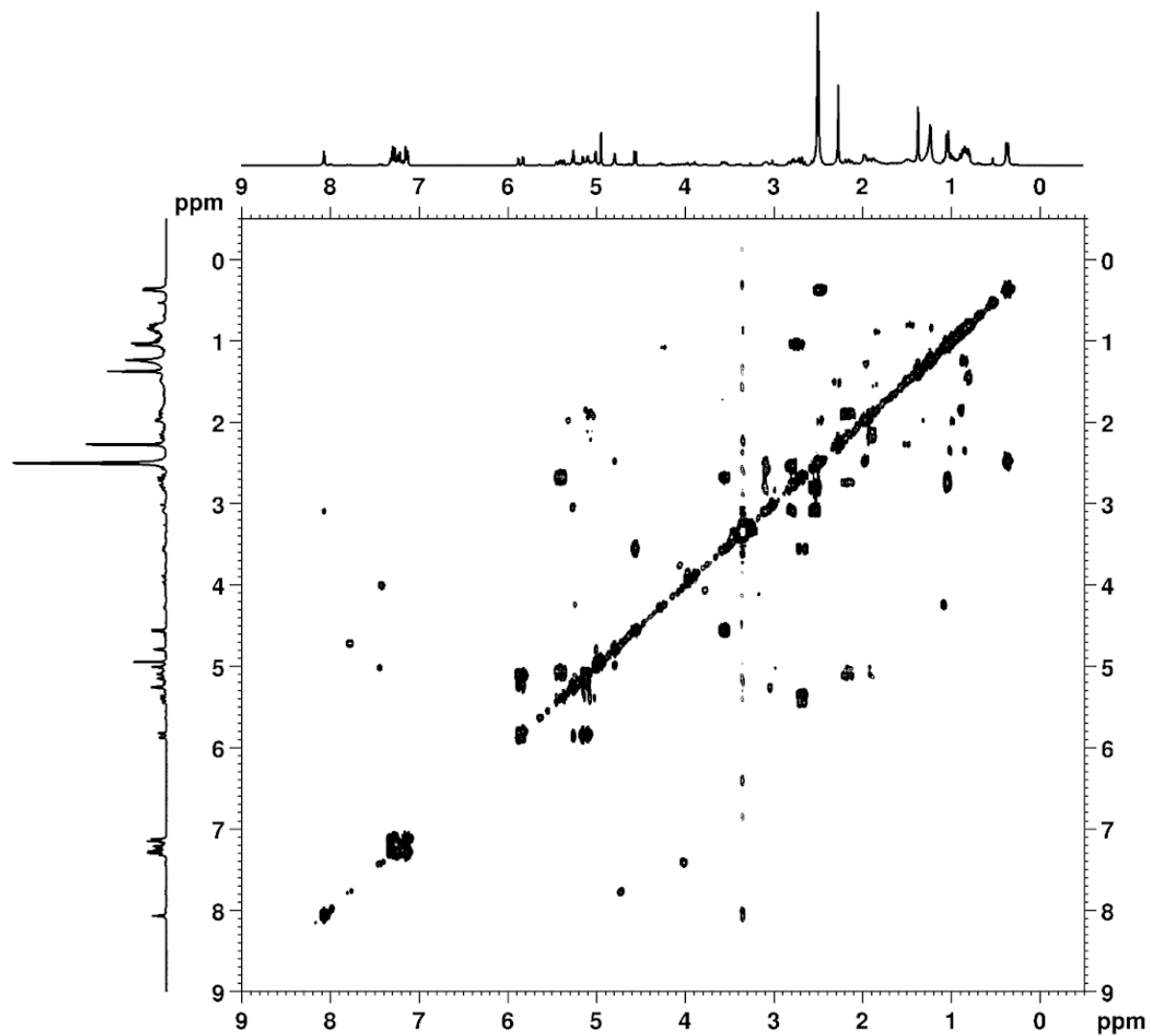


Figura 33 - Mapa de correlação COSY da citocalasina D (^1H , 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) e suas respectivas correlações

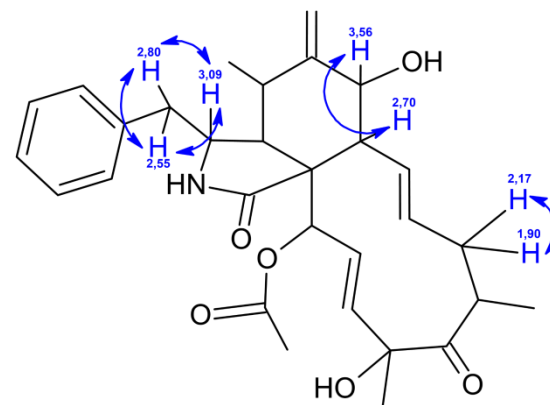
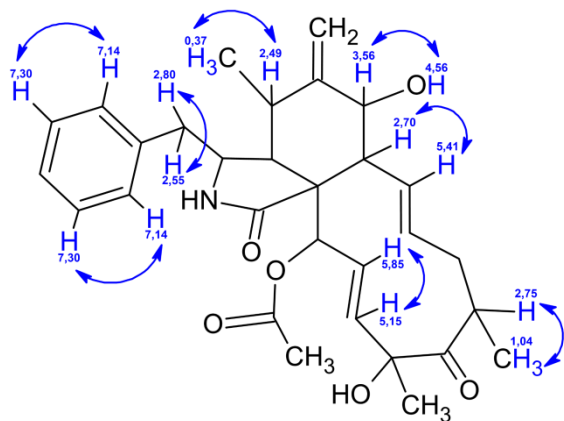
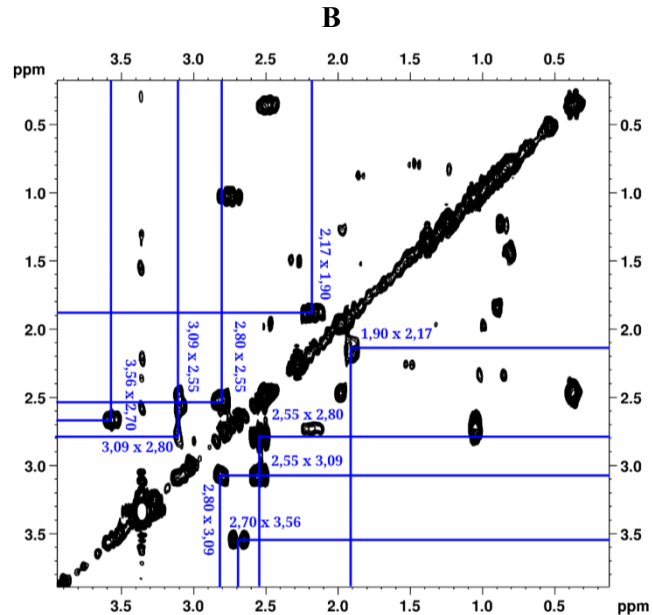
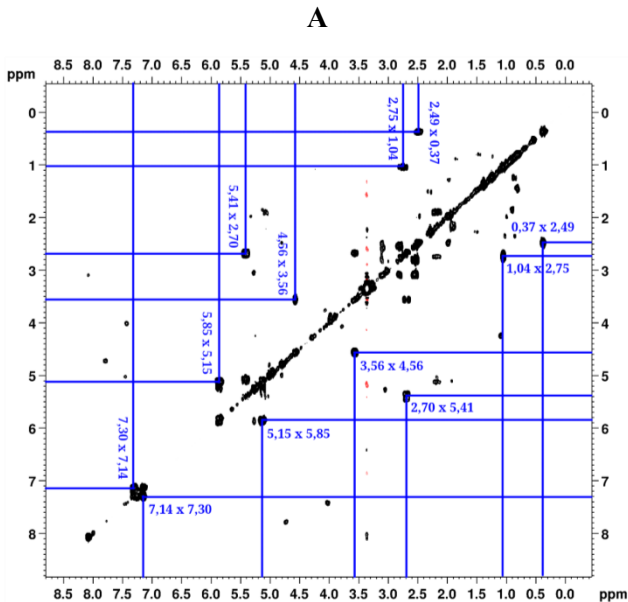


Figura 34 - Mapa de correlação HMBC da citocalasina D (^1H , 300 MHz, ^{13}C : 75 MHz; $\text{DMSO-}d_6$)

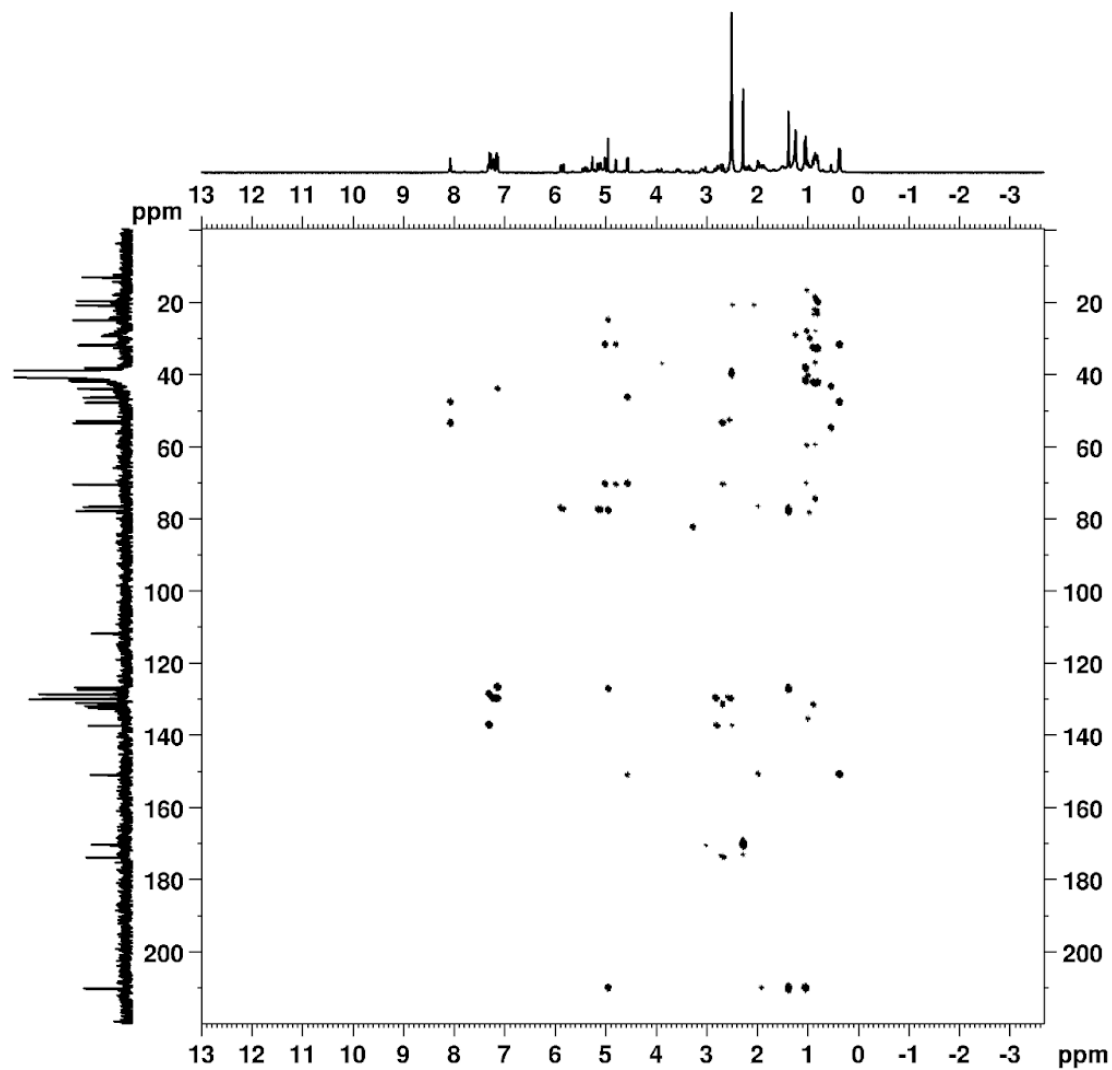
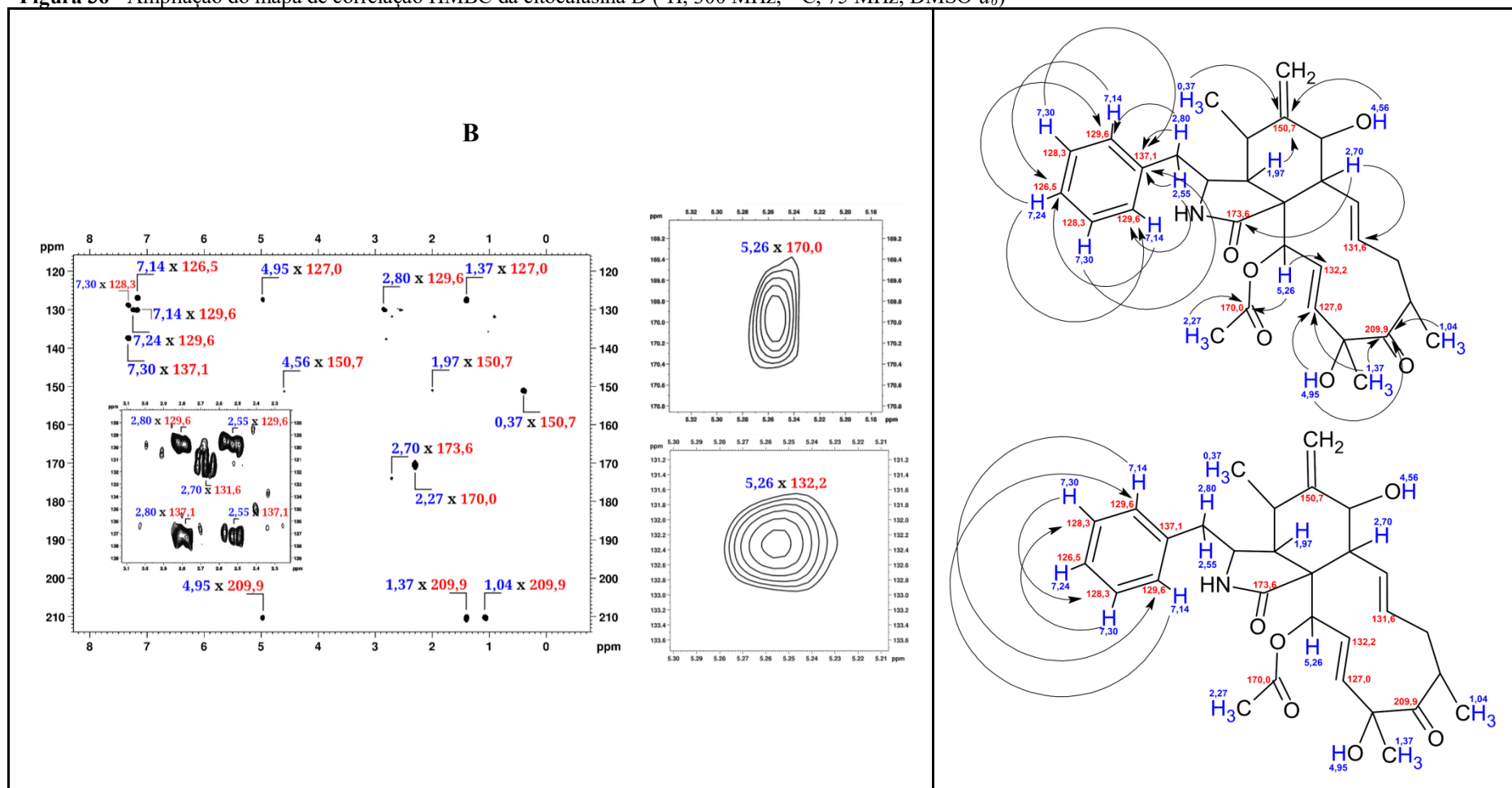


Figura 36 - Ampliação do mapa de correlação HMBC da citocalasina D (^1H , 300 MHz; ^{13}C , 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)



A citocalasina D, também conhecida como zigosporina A, foi primeiramente isolada do fungo *Metarrhizium anisopliae* (Aldridge *et al.*, 1967). Ela também pode ser encontrada em fungos como *Zygosporium masonii* (Hayakawa *et al.*, 1968) e em fungos da ordem Xylariales (Fathoni e Agusta, 2019; Jikai *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2021). É uma molécula, oriunda do metabolismo secundário de fungos, capaz de inibir uma variedade de funções desempenhadas pelo citoesqueleto, pois age diretamente nos filamentos de actina, inibindo sua polimerização (Casella *et al.*, 1981; Huang *et al.*, 2012; Trendowski, 2015) o que desencadeia eventos como alteração da morfologia e da motilidade celular, bem como a inibição da divisão celular e indução da apoptose (Schliwa, 1982; Trendowski, 2015).

Por isso, a citocalasina D é um metabólito de grande interesse para a produção de quimioterápicos, dado que expressa atividade antitumoral e citotóxica (Huang *et al.*, 2012a; Mohanty e Saini, 2025; Takanezawa *et al.*, 2017; Trendowski, 2015), além de apresentar ação antiviral (Wang *et al.*, 2010), antianafilática (Shin *et al.*, 1997), antifúngica (Cafêu *et al.*, 2005; Elias *et al.*, 2018) e antiplasmodial (Valli *et al.*, 2022). Apesar disso, é importante destacar que essa substância apresenta alta toxicidade para células eucarióticas saudáveis, o que motiva a produção de estudos que a tornem viável para fins biológicos (Huang *et al.*, 2012b; Trendowski, 2015). Além das aplicabilidades na área da saúde, em estudos realizados pelo grupo de pesquisa, a citocalasina D apresentou ação fitotóxica (Silva, 2020), o que sugere o potencial deste metabólito para o setor agrícola, na produção de herbicidas (Biasetto *et al.*, 2019).

Neste trabalho, foram isolados 5 mg de citocalasina D dos micélios do fungo *Xylaria cubensis* G1 PP8, além de 36,2 mg de uma mistura com alto teor dessa substância, cultivados em caldo Sabouraud acrescido de extrato de levedura 0,2%. De acordo com Fathoni e Agusta (2019), a bioprodutividade de citocalasina D pelos fungos endofíticos pode ser ampliada através da utilização de diferentes condições e meios de cultura, investindo principalmente em meios ricos em proteínas e aminoácidos livres, uma vez que são essenciais para a produção de citocalasina D.

5.7. Ensaios biológicos do extrato MeOH e fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de *X. cubensis* G1 PP8

5.7.1. Ensaio de atividade antibacteriana

Baseado na atividade do extrato MeOH de *Xylaria cubensis* G1 PP8, obtido a partir do cultivo em pequena escala dos fungos endofíticos, testou-se o extrato MeOH e a fase AcOEt

do extrato MeOH micelial de *X. cubensis* G1 PP8, obtidos pelo cultivo em escala ampliada, contra as bactérias *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus* a 1000 µg/mL (Tabela 17). Apesar do teste realizado com o extrato do primeiro cultivo evidenciar baixa atividade bacteriostática, o teste dos extratos do segundo cultivo não demonstrou potencial inibitório.

Essas alterações podem estar associadas a fatores como repiques sucessivos, que favorecem mutações no fungo endofítico, além das condições de cultivo (aeração, nutrição, temperatura e tempo de cultivo) que influenciam no metabolismo fúngico e na consequente baixa produção de metabólitos responsáveis pela inibição dos patógenos testados. Além disso, a presença de açúcares no extrato MeOH pode influenciar neste resultado, tendo em vista que o solvente MeOH é altamente polar e, por isso, tem afinidade por moléculas polares, como os açúcares (Chavan; Amarowicz, 2013), o que impede a ação dos metabólitos presentes nas amostras, dado que a parede celular das bactérias, em especial as gram-negativas, restringe a permeabilidade de moléculas hidrofílicas (Brown *et al.*, 2020; Munita; Arias, 2016).

A inatividade da fase AcOEt do extrato MeOH do micélio de *X. cubensis* pode estar associada à própria inatividade do extrato MeOH, inferindo-se que o cultivo em escala ampliada não resultou na produção do(s) metabólito(s) com atividade antibiótica. Ademais, o antagonismo das moléculas presentes tanto no extrato MeOH quanto na fase AcOEt pode ser um fator contribuinte para a inatividade de ambas as amostras. Diferentemente do efeito sinérgico, em que a combinação de duas ou mais moléculas potencializa o efeito biológico de uma mistura, o antagonismo resulta na redução ou inibição do efeito (Caesar; Cech, 2019).

Reporta-se que o metabólito 2-cloro-5-metoxi-3-metilciclohexa-2,5-dieno-1,4-diono isolado de *X. cubensis* apresenta atividade antibiótica contra *Staphylococcus aureus* e contra sua cepa resistente ao fármaco metilicina (MRSA), com CIM = 128 µg/mL para ambas as cepas (Klaiklay *et al.*, 2012). No estudo de Xu *et al.* (2022), a substância xylarcalasina B demonstrou moderada ação antibacteriana contra *Bacillus subtilis* (CIM = 25 µg/mL) e *Escherichia coli* (CIM = 12,5 µg/mL).

Além disso, tanto o extrato MeOH quanto a fase AcOEt têm a presença da substância citocalasina D, a qual expressa baixa atividade antibacteriana (Fathoni e Augusta, 2019), o que contribui para a inatividade de ambas as amostras. Embora não apresentem uma notória atividade antibiótica, há na literatura indícios de outras citocalasinas que são capazes de inibir a formação de biofilme de *S. aureus* (Yuyama *et al.*, 2018).

Tabela 17 - Porcentagem de inibição dos extratos MeOH dos cultivos em pequena escala (1°) e em escala ampliada (2°) e da fase AcOEt do extrato MeOH (2°) dos micélios de *X. cubensis* G1 PP8 contra *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus* em testes realizados

Extratos	Porcentagem de inibição (%) Microrganismos testados	
	AH	SA
Ext. MeOH (1° cultivo)	44,69 ± 0,03	35,78 ± 0,02
Ext. MeOH (2° cultivo)	-	-
Fase AcOEt	-	-
Oxitetraciclina	99,79	99,84

5.7.2. Ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*

O extrato MeOH e a fase AcOEt do extrato MeOH dos micélios de *X. cubensis* G1 PP8 foram avaliados quanto aos seus níveis de toxicidade frente ao crustáceo *Artemia salina*. Conforme a Tabela 18, o ensaio indicou que o extrato MeOH apresentou-se tóxico até a concentração de 125 µg/mL, com CL₅₀ = 84,02 µg/mL. Já a fase AcOEt do extrato MeOH demonstrou toxicidade até a concentração de 250 µg/mL, apresentando CL₅₀ = 144,3 µg/mL.

Apesar de se mostrarem tóxicos, destaca-se que o extrato MeOH obtido no cultivo em pequena escala apresentou maior toxicidade, com CL₅₀ = 2,76 µg/mL. Ainda assim, o extrato e a fase obtidos no cultivo em escala ampliada demonstraram toxicidade, e este efeito pode estar associado à presença da citocalasina D em ambas as amostras, dado que essa substância expressa alta citotoxicidade, devido à sua afinidade pelos filamentos de actina (Trendowski, 2015).

Apesar do seu potencial biológico, destaca-se que essa substância também é tóxica para células eucarióticas viáveis/saudáveis (Trendowski, 2015), fato que incentiva a realização de estudos mais aprofundados para torná-la viável para geração de produtos. Parte disso foi abordado no estudo de Huang *et al.* (2012b), que avaliou o potencial antitumoral da citocalasina D encapsulada em lipossomas em testes *in vivo* com camundongos, o que não gerou efeitos adversos significativos nos indivíduos testados, mas aumentou a biodisponibilidade da substância, beneficiando seu potencial bioativo.

Resultados obtidos pelo grupo de pesquisa demonstraram que citocalasina D apresenta atividade tóxica contra *A. salina*, com CL₅₀ = 31,4 µg/mL (Oliveira, J. 2018). Testes com *A. salina* realizados com outras citocalasinas revelam que essas substâncias são tóxicas, como por exemplo a citocalasina B isolada do endófito *Aspergillus* sp., com CL₅₀ = 24,9 µg/mL (Feitosa *et al.*, 2016). Os ensaios com *A. salina* são importantes para gerar dados preliminares

para a realização de testes com linhagens de células, ou até mesmo testes *in vivo*, os quais são mais precisos para apontar a toxicidade de uma determinada substância. Dados da literatura reportam que a citocalasina D isolada do fungo endofítico *X. cubensis* expressa potencial citotóxico contra células de linhagem KB, com $CI_{50} = 3,99 \mu\text{g/mL}$ (Klaiklay *et al.* 2012) e $3,25 \mu\text{g/mL}$ (Sawadsitang *et al.*, 2015), contra as linhagens de células NCI-H187 ($5,95 \mu\text{g/mL}$) e Vero ($0,36 \mu\text{g/mL}$) (Sawadsitang *et al.*, 2015).

Tabela 18 - Porcentagem de mortalidade e CL_{50} dos extratos MeOH dos cultivos em pequena escala (1°) e em escala ampliada (2°) e da fase AcOEt do extrato MeOH (2°) dos micélios de *X. cubensis* G1 PP8 contra *A. salina*

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Mortalidade (%)		
	Ext. MeOH (1°)	Ext. MeOH (2°)	Fase AcOEt
1000	100	100	100
500	97	100	100
250	93	93	73
125	93	73	47
60	87	10	20
30	87	0	0
15	83	-	-
7,5	67	-	-
3,75	63	-	-
0,95	7	-	-
0,25	3	-	-
CL_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	2,76	84,02	144,3

6. CONCLUSÕES

O estudo dos extratos MeOH dos fungos endofíticos de *Palicourea prancei* revelou que eles possuem potencial biológico, sendo fontes de substâncias promissoras para aplicações biotecnológicas. Nos ensaios preliminares, observou-se que os fungos endofíticos G1 PP8 e G2 PP5 apresentaram baixa atividade bacteriostática na concentração de 1000 µg/mL contra *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus* e que, no ensaio de toxicidade frente a *A. salina*, o extrato de G1 PP8 apresentou alta toxicidade, com $CL_{50} = 2,76$ µg/mL.

Este foi o primeiro estudo realizado com fungos endofíticos de *P. prancei*, no qual foi possível realizar a identificação molecular da espécie do fungo com código G1 PP8, denominado *Xylaria cubensis*. Da fase AcOEt do extrato MeOH dos micélios de *X. cubensis* G1 PP8, isolou-se a biomolécula citocalasina D. Os ensaios realizados com o extrato MeOH e a fase AcOEt do extrato MeOH dos micélios de *X. cubensis* G1 PP8 não apresentaram atividade antibiótica, mas foram tóxicos frente *A. salina*, com $CL_{50} = 84,02$ µg/mL para o extrato MeOH e $CL_{50} = 144,3$ µg/mL para a fase AcOEt.

Portanto, os resultados obtidos neste estudo contribuem para o conhecimento químico dos fungos endofíticos de *P. prancei*, bem como suas aplicabilidades biológicas. Para estudos futuros, sugere-se investigar o perfil químico de *X. cubensis* G1 PP8 em outros meios de cultivo e explorar seu potencial para a produção de substâncias de interesse biotecnológico, aliado a estudos com o seu caldo metabólico, tendo em vista os resultados observados em pesquisas realizadas com a espécie. Também sugere-se a realização de estudos com a planta hospedeira, *P. prancei*, a fim de realizar um comparativo entre a fitoquímica e os metabólitos produzidos pelos microrganismos fúngicos de suas folhas.

7. REFERÊNCIAS

- Acharya, T.; Hare, J. Sabouraud Agar and Other Fungal Growth Media. In: Gupta, V. K.; Tuohy, M. (ed). **Laboratory protocols in fungal biology: fungal biology**. Springer, Cham, cap. 2, p. 69 - 86, 2022
- Adhikari, P.; Joshi, K.; Pandey, A. *Taxus* associated fungal endophytes: anticancerous to other biological activities. **Fungal Biology Reviews**, v. 45, n. 100308, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2023.100308>.
- Ahmed, R.; Hira, N.; Wang, M; Iqbal, S.; Yi, J.; Hemar, Y. Genipin, a natural blue colorant precursor: source, extraction, properties, and applications. **Food Chemistry**, v. 434, n. 137498, 2024. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137498>
- Aldridge, D. C.; Armstrong, J. J.; Speake, R. N.; Turner, W. B. The cytochalasins, a new class of biologically active mould metabolites. **Chemical Communications (London)**, v. 1, n. 26, 1967. doi:10.1039/c19670000026
- Alexandrino, C. R.; Carvalho, L. P.; Melo, E. J. T.; Mello, E. O.; Gomes, V. M.; Callado, C. H., *et al.* Bioactivity of leaf extracts from species of *Palicourea* (Rubiaceae) on *Trypanosoma cruzi*, *Candida* sp. and *Fusarium solani*. **European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 6, p. 489 - 496, 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.1791.1927>
- Ali, L.; Mustafa, M.; Xiao, Z. R.; Islam, W.; Ara, U.; Ajmal, M.; *et al.* Responses of *Enterococcus faecalis* resistance and cytolysin up-regulation to nutrients in constructed mesocosms. **Journal of King Saud University - Science**, v. 34, 1, n. 101680, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101680>.
- Aloke, C.; Achilonu, I. Coping with the ESKAPE pathogens: evolving strategies, challenges and future prospects. *Microbial Pathogenesis*, v. 175, n. 105963, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105963>.
- Alsaadi, A.; Alghamdi, A. A.; Akkielah, L.; Alanazi, M.; Alghamdi, S.; Abanamy, H., *et al.* Epidemiology and clinical characteristics of *Morganella morganii* infections: a multicenter retrospective study. **Journal of Infection and Public Health**, 2023.

- Aly, A. H.; Debbab, A.; Proksch, P. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. **Applied Microbiol and Biotechnology**, v. 90, p. 1829–1845, 2011, DOI: 10.1007/s00253-011-3270-y.
- Amador, T. A.; Verotta, L.; Nunes, D. S.; Elisabetsky, E. Antinociceptive profile of hodgekinsine. **Planta Medica**, v. 66, n. 8, p. 770 - 772, 2000. doi: 10.1055/s-2000-9604
- Amaral, L. da S.; Rodrigues-Filho, E.; Santos, C. A. A.; de Abreu, L. M.; Pfenning, L. H. An HPLC evaluation of cytochalasin d biosynthesis by *Xylaria arbuscula* cultivated in different media. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 9, p. 1279-1282, 2014. doi: 10.1177/1934578x1400900914
- Ambele, C. F.; Ekesi, S.; Bisseleua, H. D. B.; Babalola, O. O.; Khamis, F. M.; Djuideu, C. T. L., *et al.* Entomopathogenic fungi as endophytes for biological control of subterranean termite pests attacking cocoa seedlings. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 126, p. 2 - 18, 2020. DOI: 10.3390/jof6030126.
- Arcanjo, D. D. R.; Albuquerque, A. C. M.; Melo-Neto, B.; Santana, L. C. L. R.; Mederiso, M. G. F.; Citó, A. M. G. L. Bioactivity evaluation against *Artemia salina* Leach of medicinal plants used in Brazilian Northeastern folk medicine. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, n. 3, p. 505 - 509, 2012. DOI: 10.1590/S1519-69842012000300013.
- Assis, J. C. S. R.; Suffredini, I. B.; Moreno, P. R. H.; Young, M. C.; Varella, A. D.; Younes, R. N., *et al.* Analysis of the toxic potential of *Palicourea corymbifera* (Müll. Arg.) Standl. in laboratory animals. **Research in Veterinary Science**, v. 80, p. 209-217, 2006. doi: 10.1016/j.rvsc.2005.07.002
- Assis, R. C.; Monteiro, G. R.; Valentim, A. B.; Maia, C. S. C.; Felipe, S. M. S.; Rabelo, C. A. F. Biological properties of bioactive compounds from the fruit and leaves of the genipap tree (*Genipa americana* L.): A systematic review. **Food Bioscience**, v. 53, n. 102514, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102514>.
- Atayde, H. M.; Carneiro, A. L. B.; Martins, M. da S; Palheta, R. A. Bioensaios de toxicidade com espécies *Artemia*. In: Teixeira, M. F. S; Silva, T. A.; Palheta, R. A.; Carneiro, A. L. B.; Atayde, H. M (Org.). **Fungos da Amazônia: uma riqueza inexplorada** (Aplicações Biotecnológicas). Manaus: Edua, cap. 11, p. 190 - 207, 2011.

- Bang, S.; Song, J. H.; Lee, D.; Lee, C.; Kim, S.; Kang, K. S., *et al.* Neuroprotective Secondary Metabolite Produced by an Endophytic Fungus, *Neosartorya fischeri* JS0553, Isolated from *Glehnia littoralis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 1831 - 1838, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05481>.
- Benevides, P. J. C.; Young, M. C. M.; Bolzani, V. da S. Biological activities of constituents from *Psychotria spectabilis*. **Pharmaceutical Biology**, v. 42, n. 8, p. 565 - 569, 2004. doi: 10.1080/13880200490901780
- Berger, A.; Valant-Vetschera, K.; Schinnerl, J.; Brecker, L. Alkaloid diversification in the genus *Palicourea* (Rubiaceae: Palicoureeae) viewed from a (retro-)biogenetic perspective. **Phytochemistry Reviews**, v. 21, p. 915 - 939, 2022b. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09768-y>
- Berger, A.; Valant-Vetschera, K.; Schinnerl, J.; Brecker, L. A revised classification of the sister tribes Palicoureeae and Psychotrieae (Rubiaceae) indicates genus-specific alkaloid accumulation. **Phytochemistry Reviews**, v. 21, p. 941 - 986. 2022a. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09769->
- Bernardes, L. S. C.; Lang, K. L.; Petrovick, P. R.; Schenkel, E. P. Produtos naturais e o desenvolvimento de fármacos. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R (org.). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. São Paulo: Artmed, cap. 9, p. 218-249, 2017.
- Biasetto, C. R.; Somensi, A.; Abdalla, V. C. P.; Abreu, L. M.; Gualtieri, S. C. J.; Pfenning, L. H. Phytotoxic constituents from endophytic fungus *Xylaria cubensis* associated with *Eugenia brasiliensis*. **Química Nova**, v. 42, n. 5, p. 485–488, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170367>
- Bills, G. A.; Dombrowski, F.; Pelaez, J.; Polishook, Z. Recent and future discoveries of pharmacologically active metabolites from tropical fungi. In: Watling, R.; Frankland, J. C.; Ainsworth, A. M.; Isaac, S.; Robinson, C. H. (Ed.). **Tropical Mycology**, vol 2, CAB International, p. 165 - 194, 2002.
- Bioisca®: isca granulada. Responsável técnico: Roberto Nobuioishi Maegawa. São Paulo: COCAPEC, 2014. bula de agroquímico.

Disponível

em:

<https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/bioisca.pdf>. Acesso em 14 jan 2024.

- Blair, J. M. A.; Webber, M. A.; Baylay, A. J.; Ogbolu, D. O.; Piddock, L. J. V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, p. 42 - 51, 2015. DOI: 10.1038/nrmicro3380.
- Bobate, S.; Mahalle, S.; Dafale, N. A.; Bajaj, A. Emergence of environmental antibiotic resistance: mechanism, monitoring and management. **Environmental Advances**, v. 13, n. 100409, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100409>.
- Borhidi, A. L. La circunscripción de *Palicourea* subgen. *Heteropsychotria* (Rubiaceae Palicoureeae). **Acta Botanica Hungarica**, v. 59, n. 1-2, p. 25 - 61. 2017. <https://doi.org/10.1556/034.59.2017.1-2.4>.
- Bogas, A. C.; Cruz, F. P. N.; Lacava, P. T.; Sousa, C. P. Endophytic fungi: an overview on biotechnological and agronomic potential. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e258557, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.258557>.
- Brandão, H. N.; David, J. P.; Couto, R. D.; Nascimento, J. A. P.; David, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1359–1369, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000600026>.
- Brinda, G. B.; Thara Sussha, S.; Kiran, G. V. N. S. M. Peptone supplementation of potato dextrose agar medium proved better for mushroom mycelial development. **Journal of Krishi Vigyan**, v. 10, n. 1, p. 189 - 195, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.5958/2349-4433.2021.00090.8>
- Brown, A. R.; Gordon, R. A.; Hyland, S. N.; Siegrist, M. S.; Grimes, C. L. Chemical biology tools for examining the bacterial cell wall. **Cell Chemical Biology**, v. 27, p. 1052 - 1062, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2020.07.024>.
- Caesar, L. K.; Cech, N. B. Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1+1 does not equal 2. **Natural Product Reports**, v. 36, n. 6, p. 869-888, 2019.

- Cafêu, M. C.; Silva, G. H.; Teles, H. L.; Bolzani, V. S.; Araújo, A. R.; Young, M. C. M.; *et al.* Substâncias antifúngicas de *Xylaria* sp., um fungo endofítico isolado de *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 991-995, 2005.
- Carrion, L. L.; Ramos, D. F.; Martins, D.; Osório, M. I. C.; Cursino, L. M. de C.; Mesquita, D. W. O., *et al.* Antimycobacterial activity of Brazilian Amazon plants extracts. **International Journal of Phytomedicine**, v. 5, n. 4, p. 479 - 485, 2013.
- Carroll, G. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. **Ecology**, v. 69, n. 1, p. 2 – 9, 1988. DOI: doi:10.2307/1943154.
- Casella, J. F.; Flanagan, M. D.; Lin, S. Cytochalasin D inhibits actin polymerization and induces depolymerization of actin filaments formed during platelet shape change. **Nature**, v. 293, n. 5830, p. 302–305, 1981. doi:10.1038/293302a0
- Carvalho, C. R.; Maia, M. Q.; Sobral, M.; Pereira, G. M. D.; Silva, K.; Vital, M. J. S., *et al.* Diversity and antimicrobial activity of culturable endophytic fungi associated with the neotropical ethnomedicinal plants *Copaifera langsdorffii* and *Copaifera pubiflora*. **South African Journal of Botany**, v. 142, p. 305 - 315, 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.06.021>.
- Cavarsan, E. C. M.; Marin, L. C.; Diaz, I. E. C.; Paciencia, M. L. B.; Frana, S. A.; Suffredini, I. B. Preliminary analysis of Brazilian Amazonian plant extracts using bench-top assays in a through-put basis aiming the identification of potential antioxidant natural product. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 38, n. 1, 2017.
- Chapla, V. M.; Biasetto, C. R.; Araujo, A. R. Fungos endofíticos: uma fonte inexplorada e sustentável de novos e bioativos produtos naturais. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 421-437, 2013.
- Chang, J.-C.; Hsiao, G.; Lin, R.-K.; Kuo, Y.-H.; Ju, Y.-M., *et al.* Bioactive constituents from the termite nest-derived medicinal fungus *Xylaria nigripes*. **Journal of Natural Products**, v. 80, p. 38-44, 2017.
- Chaturvedi, P.; Shukla, P.; Giri, B. S.; Chowdhary, P.; Chandra, R.; Gupta, P., *et al.* Prevalence and hazardous impact of pharmaceutical and personal care products and antibiotics in environment: a review on emerging contaminants. **Environmental Research**, v. 194, n. 110664, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110664>.

- Chavan, U. D.; Amarowicz, R. Effect of various solvent systems on extraction of phenolics, tannins and sugars from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). **International Food Research Journal**, v. 20, n. 3, p. 1139-1144, 2013.
- Chen, X.- W.; Yang, Z.- D.; Li, X.- F.; Sun, J.- H.; Yang, L.- J.; Zhang, X.- G. Colletotrichine B, a new sesquiterpenoid from *Colletotrichum gloeosporioides* GT-7, a fungal endophyte of *Uncaria rhynchophylla*. **Natural Product Research**, v. 33, n. 1, p. 108 - 112, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1437437>.
- Chen, W.; Yu, M.; Chen, S.; Gong, T.; Xie, L.; Liu, J., *et al.* Structures and biological activities of secondary metabolites from *Xylaria* spp. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 190, 2024. doi: <https://doi.org/10.3390/jof10030190>
- CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. CLSI document M07-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, v. 35, n. 2, p. 92, jan. 2015.
- Coe, F. G.; Parikh, D. M.; Johnson, C. A. Alkaloid presence and brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay of medicinal species of eastern Nicaragua. *Pharmaceutical Biology*, v. 48, n. 4, p. 439-445, 2010.
- Collins, C. H.; Braga, G. L.; Bonato, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 452 p.
- Coradin, L.; Camillo, J.; Vieira, I. C. G. (Ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Norte**. (Série Biodiversidade; 53), Brasília, DF: MMA, 2022. 1452p.
- Cruz, J. S.; Silva, C. A.; Hamerski, L. Natural products from endophytic fungi associated with Rubiaceae species. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 126, 2020. DOI: 10.3390/jof6030128.
- Dairiki, J. K.; Silva, T. B. de A. da; Epifânio, C. M. F.; Dantas, F. de M.; Rocha, T. L. P. da; Gonçalves, L. U. Influência da salinização da água sobre a vida útil de *Artemia salina* e seu efeito no desempenho de larvas de pirarucu (*Arapaima gigas*). **Embrapa Amazônia Ocidental: Circular Técnica**, v. 84, p. 2 - 18, abr. 2022.

- Delprete, P. G.; Jardim, J. G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 101 - 128, 2012.
- Delprete, P. G.; Kirkbride Jr., J. H. New combinations and new names in *Palicourea* (Rubiaceae) for species of *Psychotria* subgenus *Heteropsychotria* occurring in the Guianas. **Journal of Botanical Research Institute of Texas**, v. 10, n. 2, p. 409 - 442, 2016.
- Deshmukh, S. K.; Sridhar, K. R.; Gupta, M. K. Application of selected species of the genus *Xylaria* in traditional medicine. In: Sridhar, K. R.; Deshmukh, S. K (ed.). **Advances in macrofungi: pharmaceuticals and cosmeceuticals**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press. cap. 10, p. 122-136, 2021.
- Doan, L.; Vo, N. K. H.; Tran, H. T. M. Initial study on physiochemical property and antibacterial activity against skin-infecting bacteria of silver nanoparticles biologically produced using crude melanin from *Xylaria* sp. **Cosmetics**, v. 10, 2023. doi: <https://doi.org/10.3390/cosmetics10060000>
- Do, M. A.; Dang, H. T.; Doan, N.T.; Pham, H. L. T.; Tran, T. A.; Le, V. C. T., *et al.* Silver nanoparticle toxicity on *Artemia parthenogenetica* nauplii hatched on axenic tryptic soy agar solid medium. **Scientific Reports**, v. 13, n. 6365, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33626-w>.
- Elavarasi, A.; Rathna, G. S.; Kalaiselvam, M. Taxol producing mangrove endophytic fungi *Fusarium oxysporum* from *Rhizophora annamalayana*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, p. S1081 - S1085, 2012.
- Elias, L. M.; Fortkamp, D.; Sartori, S. B.; Ferreira, M. C.; Gomes, L. H.; Azevedo, J. L., *et al.* The potential of compounds isolated from *Xylaria* spp. as antifungal agents against anthracnose. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p. 840-847, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.03.003>
- Fadiji, A. E.; Babalola, O.O. Elucidating mechanisms of endophytes used in plant protection and other bioactivities with multifunctional prospects. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, n. 467, 2020. DOI: 10.3389/fbioe.2020.00467.

- Fan, N.-W.; Chang, H.-S.; Cheng, M.-J.; Hsieh, S.-Y.; Liu, T.-W.; Yuan, G.-F. Secondary metabolites from the endophytic fungus *Xylaria cubensis*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 97, n. 12, p. 1689-1699, 2014. doi: <https://doi.org/10.1002/hlca.201400091>
- Fathoni, A.; Agusta, A. Bioproduction of cytochalasin D by endophytic fungus *Xylaria* sp. DAP KRI-5. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 9, n. 3, p. 105-110, 2019. doi: 10.7324/JAPS.2019.90315
- Feitosa, A. de O.; Dias, A. C. S.; Ramos, G. da C.; Bitencourt, H. R.; Siqueira, J. E. S.; Marinho, P. S. B., *et al.* Lethality of cytochalasin B and other compounds isolated from fungus *Aspergillus* sp. (Trichocomaceae) endophyte of *Bauhinia guianensis* (Fabaceae). **Revista Argentina de Microbiología**, v. 48, n. 3, p. 259–263, 2016. doi: 10.1016/j.ram.2016.04.002
- Fernández-Billón, M.; Llambías-Cabot, A. E.; Jordana-Lluch, E.; Oliver, A.; Macià, M. D. Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Biofilm**, v. 5, n. 100129, 2023.
- Ferreira, M. C.; Cantrell, C. I.; Wedge, D. E.; Gonçalves, V. N.; Jacob, M. R.; Khan, S., *et al.* Antimycobacterial and antimalarial activities of endophytic fungi associated with the ancient and narrowly endemic neotropical plant *Vellozia gigantea* from Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 10, p. 692 - 697, 2017. DOI: 10.1590/0074-02760170144.
- Ferreira, E. M. S.; Corrêia, T. M.; Silva, J. F. M.; Pimenta, R. S. Endophytic fungi associated with medicinal plants of Amazonian Forest. In: Rosa, L. H. (ed.). **Neotropical Endophytic Fungi: Diversity, Ecology, and Biotechnological Applications**. Switzerland: Springer Nature, 2021, cap. 9, p. 177 - 197. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-53506-3>.
- Ferreira, R. R.; Cruz, J. S.; Hamerski, L. Estratégia OSMAC: um método acessível para a descoberta de novas substâncias microbianas. **Revista Virtual de Química**, v. 14, n. 5, p. 853 - 869, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20220041>.
- Fleming, A. ON The antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. **The British Journal of Experimental Pathology**, v. 10, n. 3, p. 226 - 236, 1929.

Flora e Funga do Brasil. *Palicourea Aubl.* Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB14133>>. Acesso em: 04 jan. 2025b.

Flora e Funga do Brasil. *Palicourea prancei* (Steerm.) Delprete & J.H.Kirkbr. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB617511>>. Acesso em: 04 jan. 2025c.

Flora e Funga do Brasil. **Rubiaceae Juss.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB210>>. Acesso em: 04 jan. 2025a.

Fontana, D. C.; Paula, S.; Torres, A. G.; Souza, V. H. M.; Pascholati, S. F.; Schmidt, D., *et al.* Endophytic fungi: biological control and induced resistance to phytopathogens and abiotic stresses. **Pathogens**, v. 10, n. 570, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens10050570>.

Formagio, A. S. N.; de Oliveira Junior, P. C.; Volobuff, C. R. F.; Kassuya, C. A. L.; Ferreira, D. C.; Cardoso, C. A. L., *et al.* Anti-inflammatory activity of methanolic extract and an alkaloid from *Palicourea crocea* (Sw.) Roem and Schult. **Inflammation**, v. 42, n. 3, p. 1045 - 1055, 2019. doi: 10.1007/s10753-019-00966-7.

Formagio, A. S. N.; Vilegas, W.; Volobuff, C. R. F.; Kassuya, C. A. L.; Almeida, V. P. de; Manfron, J., *et al.* *Palicourea tomentosa* (Aubl.) Borhidi: Microscopy, chemical composition and the analgesic, anti-inflammatory and anti-acetylcholinesterase potential. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 291, p. 115050, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115050>

Fox, E. M.; Howlett, B. J. Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology. **Current Opinion in Microbiology**. v. 11, p. 481 - 487, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2008.10.007>.

Freire, M. P.; de Assis, D. B.; Tavares, B. de M.; Brito, V. O. C.; Marinho, I.; Lapchik, M. Impact of COVID-19 on healthcare-associated infections: antimicrobial consumption does not follow antimicrobial resistance. **Clinics**, v. 78, n. 100231, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinsp.2023.100231>.

Freires, I. A.; Sardi, J. de C. O.; Castro, R. D.; Rosalen, P. L. Alternative animal and non-animal models for drug discovery and development: bonus or burden?. **Pharmaceutical Research**, v. 34, p. 681 - 686, 2017. DOI: 10.1007/s11095-016-2069-z.

- Gan, D.; Li, C.; Shu, Y.; Wang, J.; Wang, C.; Zhu, L., *et al.* Steroids and dihydroisocoumarin glycosides from *Xylaria* sp. by the one strain many compounds strategy and their bioactivities. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 21, n. 2, p. 154-160, 2023. doi: [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(23\)60394-2](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(23)60394-2)
- Gangadevi, V.; Muthumary, J. Isolation of *Colletotrichum gloeosporioides*, a novel endophytic taxol-producing fungus from the leaves of a medicinal plant, *Justicia gendarussa*. **Mycologia Balcanica**, v. 5, p. 1 - 4, 2008.
- Gill, H.; Vasundhara, M. Isolation of taxol producing endophytic fungus *Alternaria brassicicola* from non-*Taxus* medicinal plant *Terminalia arjuna*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 74, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2651-8>.
- Gomes, L. A. **Estudo químico e biológico de fungos endofíticos isolados de *Deguelia duckeana***. 2024. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2024.
- Gong, H.; Bandura, J.; Wang, G.-L.; Feng, Z.-P.; Sun, H.-S. Xylketal B: a marine compound with medicinal potential. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 230, n. 107963, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107963>
- Gong, Z.; Xiong, L.; Shi, H.; Yang, S.; Herrera-Estrella, L. R.; Xu, G., *et al.* Plant abiotic stress response and nutrient use efficiency. **Science China Life Sciences**. v. 63, n. 5, p. 635 – 674, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1683-x>.
- Gonzaga, A. D.; Garcia, M. V. B.; Sousa, S. G. A. de .; PY-Daniel, V.; Correa, R. da S.; Ribeiro, J. D. Toxicidade de manipueira de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e erva-de-rato (*Palicourea marcgravii* St. Hill) a adultos de *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae). **Acta Amazonica**, v. 38, n. 1, p. 101–106, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0044-5967200800010001>
- Gupta, S.; Chaturvedi, P.; Kulkarni, M. G.; Starden, J. V. A critical review on exploiting the pharmaceutical potential of plant endophytic fungi. **Biotechnology Advances**, v. 39, n. 107462, 2020.
- Gupta, A.; Meshram, V.; Gupta, M.; Goyal, S.; Qureshi, K. A.; Jaremko, M., *et al.* Fungal endophytes: microfactories of novel bioactive compounds with therapeutic

interventions; a comprehensive review on the biotechnological developments in the field of fungal endophytic biology over the last decade. **Biomolecules**, v. 13, n. 1038, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom13071038>.

- Gontijo, D. C.; do Nascimento, M. F. A.; Rody, H. V. S.; Magalhães, R. A.; Margalho, L. F.; Brandão, G. C.; *et al.* In vitro antiplasmodial activity, targeted LC-MS metabolite profiling, and identification of major natural products in the bioactive extracts of *Palicourea* and *Psychotria* species from the Amazonia and Atlantic Forest biomes, Brazil. **Metabolomics**, v. 17, n. 9, 81, 2021. doi: <https://doi.org/10.1007/s11306-021-01833-z>
- Gurgel, R. S.; Rodrigues, J. G. C.; Matias, R. R.; Batista, B. N.; Oliveira, R. L.; Albuquerque, P. M. Biological activity and production of metabolites from Amazon endophytic fungi. **African Journal of Microbiology Research**, v. 14, v. 2, p. 85 - 93, 2020a.
- Gurgel, R. S. **Atividade antimicrobiana, antioxidante e citotóxica de metabólitos de fungos endofíticos isolados de espécies amazônicas**. 2020. 108 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais) - Universidade Estadual do Amazonas, Manaus, 2020b.
- Hamidi, M. R.; Jovanova, B.; Panovska, T. K. Toxicological evaluation of the plant products using brine shrimp (*Artemia salina* L.) model. **Macedonian Pharmaceutical Bulletin**, v. 60, n. 1, p. 9 - 18, 2014.
- Harding, M.; Hennon, S. W.; Feldman, M. F. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. **Nature Reviews: Microbiology**. v. 16, p. 91 - 102. 2018. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro.2017.148>
- Harwig, J.; Scott, P. M. Brine shrimp (*Artemia salina* L.) larvae as a screening system for fungal toxins. **Applied Microbiology**, v. 21, n. 6, p. 1011-1016, jun. 1971. DOI: <https://doi.org/10.1128/am.21.6.1011-1016.1971>.
- Hayakawa, S.; Matsushima, T.; Kimura, T.; Minato, H.; Katagiri, K. Zygosporin A, a new antibiotic from *Zygosporium masonii*. **The Journal of Antibiotics**. v. 21, n. 8, p. 523-524, 1968.

- Heitzman, M. E.; Neto, C. C.; Winiarz, E.; Vaisberg, A.J.; Hammond, G.B. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). **Phytochemistry**, v. 66, n. 1, p. 5-29, 2005. doi: 10.1016/j.phytochem.2004.10.022.
- Hinterdobler, W.; Bacher, M.; Shi, B.-B.; Baurecht, D.; Krisai-Greilhuber I.; Schmoll, M.; *et al.* New cytochalasans from an endophytic *Xylaria* species associated with Costa Rican *Palicourea elata* (Rubiaceae). **Natural Product Research**, v. 37, n. 1, p. 85 - 92, 2023. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1956490>
- Hinterdobler, W.; Schinnerl, J. Chemical diversity and richness of fungal endophytes from Costa Rican *Palicourea* and *Psychotria* species (Rubiaceae). **Acta Zoobot Austria**, v. 156, p. 215 - 230, 2019.
- Hossain, M.; Mondal, M.; Morad, R. U.; Uddin, N.; Das, A.; Hossain, M. S., *et al.* Evaluation of bioactivities of methanol and petroleum ether extracts of *Cassia renigera* seed. **Clinical Phytoscience**, v. 4, n. 33, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40816-018-0091-x>.
- Huang, F.-Y.; Li, Y.-N.; Mei, W.-L.; Dai, H.-F.; Zhou, P.; Tan, G.-H. Cytochalasin D, a tropical fungal metabolite, inhibits CT26 tumor growth and angiogenesis. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 5, n. 3, p. 169–174, 2012a. doi: 10.1016/s1995-7645(12)60019-4
- Huang, F.-Y.; Mei, W.-L.; Li, Y.-N.; Tan, G.-H.; Dai, H.-F.; Guo, J.-L., *et al.* The antitumour activities induced by pegylated liposomal cytochalasin D in murine models. **European Journal of Cancer**, v. 48, p. 2260-2269, 2012b. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2011.12.018>
- Ji, X.; Xia, Y.; Zhang, H.; Cui, J.-L. The microscopic mechanism between endophytic fungi and host plants: from recognition to building stable mutually beneficial relationships. **Microbiological Research**, v. 261, n. 127056, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127056>.
- Jikai, L.; Jianwen, T.; Zejun, D.; Zhihui, D.; Xianghua, W.; Peigui, L. Neoengleromycin, a novel compound from *Engleromyces goetzii*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 85, 2002.

- Karou, S. D.; Tchacondo, T.; Ilboudo, D. P.; Simpure, J. Sub-Saharan Rubiaceae: a review of their traditional uses, phytochemistry and biological activities. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 14, n. 3, p. 149 - 169, 2011. DOI: 10.3923/pjbs.2011.149.169.
- Keller, N. P.; Turner, G.; Bennett, J. Fungal secondary metabolism - from biochemistry to genomics. **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, n. 12, p. 937 - 947, 2005. DOI: doi:10.1038/nrmicro1286.
- Kinupp, V. F. **Riqueza, abundância e distribuição do gênero *Psychotria* L. (Rubiaceae) na Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus - AM**. 2002. 100 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - Universidade do Amazonas, Manaus, 2002.
- Kipsang, F.; Munyiva, J.; Menza, N.; Musyoki, A. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections: antimicrobial resistance patterns and risk factors for acquisition in a Kenyan intensive care unit. **IJID Regions**, v. 9, p. 111 – 116, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijregi.2023.10.007>.
- Klaiklay, S.; Rukachaisirikul, V.; Sukpondma, Y.; Phongpaichit, S.; Buatong, J.; Bussaban, B. Metabolites from the mangrove-derived fungus *Xylaria cubensis* PSU-MA34. **Archives of Pharmacal Research**, v. 35, n. 7, p. 1127-31, 2012. doi: 10.1007/s12272-012-0701-y
- Koether, K.; Lee, S. T.; Belluci, R. S.; Garcia, R.; Pfister, J. A.; Cunha, P. H. J. Spontaneous poisoning by *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) in a sheep herd in southeastern Brazil. **Toxicon**, v. 161, p. 1 - 3, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.02.015>
- Kogel, K.-H.; Franken, P.; Hückelhoven, R. Endophyte or parasite – what decides?. **Plant Biology**, v. 9, p. 358-363, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2006.05.001>.
- Kreis, W.; Munkert, J.; Pádua, R. M. Biossíntese de metabólitos primários e secundários. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R (org.). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017, cap. 11.
- Kusari, S.; Spiteller, M. Metabolomics of endophytic fungi producing associated plant secondary metabolites: progress, challenges and opportunities. In: Roessner, U. (ed.). **Metabolomics**, InTech, cap. 10, p. 241 - 266, 2012.

- Lei, Y.; Zhao, G.; Sun, W.; Zhu, J.; Liu, T.; *et al.* Transcriptomic profiling reveals the effect of amino acid metabolism on the production capacity of *Volvariella volvacea* during repeated subculture. **Food Bioscience**, v. 62, n. 105273, 2024. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105273>
- Lemes, P. G.; Matos, M. F.; Araújo Jr., C. A.; Serrão, J. E.; Zanuncio, J. C. An organic bait based on *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) and *Tephrosia candida* (Fabaceae) does not control nests of *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae) in eucalyptus plantations. **Agricultural and Forest Entomology**, n. 23, p. 512 - 517, 2021. doi: 10.1111/afe.12455
- Li, G.; Schmidt, S.; Silué, S. K.; Koné, N. A.; Poulsen, M. Phylogenetic analysis of termite-associated *Xylaria* from Africa reveals hidden diversity. **Fungal Biology**, v. 129, n. 101523, 2025. doi: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2024.12.001>
- Li, J.; Tan, Y.-F.; Zhou, S.-Q.; Liu, S.; Wang, W.-X.; Jiang, Y.-P., *et al.* Neuroprotective methylsuccinic acid and enoic acid derivatives from the fungus *Xylaria longipes*. **Phytochemistry**, v. 210, n. 113652, 2023. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2023.113652>
- Li, Y.; Roberts, J. A.; Walker, M. M.; Aslan, A. T.; Harris, P. N. A.; Sime, F. B. The global epidemiology of ventilator-associated pneumonia caused by multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 139, p. 78 - 85, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2023.11.023>.
- Libralato, G.; Prato, E.; Migliore, L.; Cicero, A. M.; Manfra, L. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp. **Ecological Indicators**, v. 69, p. 35 – 49. 2016. DOI:10.1016/j.ecolind.2016.04.017.
- Liu, H.; Zhu, J.; Hu, Q.; Rao, X. *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 50, p. 10-17, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2016.07.006>.
- Liu, T.-H.; Xu, X.; Li, L.-Q.; Tan, Y.-F.; Zhou, S.-Q.; Liu, S., *et al.* Two new quinoline alkaloid with neuroprotective activities from *Xylaria longipes*. **Fitoterapia**, v. 175, n. 105930, 2024. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2024.105930>

- Long, H.-P.; Zhou, X.; Zhou, S.-Q.; Li, L.-Q.; Liang, A.-L.; Lu, W.-Y., *et al.* Five brasilane-type sesquiterpenoids with neuroprotective activities from *Xylaria nigripes*. **Phytochemistry**, v. 231, n. 114357, 2025. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2024.114357>
- Luis-Yong, D.; Guzmán-López, O.; Salinas-Castro, A.; Martín-Romero, E. S.; Zamora-Palma, J.; Ricaño-Rodríguez, J. Antibacterial activity and virulence factors inhibition by *Xylaria* sp. (Xylariaceae, Ascomycota): a study of bioactive potential. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 26, 106, 2023.
- Lv, Y.; Li, Y.; Liu, X.; Xu, K. Effect of soil sulfamethoxazole on strawberry (*Fragaria ananassa*): Growth, health risks and silicon mitigation. **Environmental Pollution**, v. 286, n. 117321, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117321>
- Maehara, S.; Simanjuntak, P.; Kitamura, C.; Ohashi, K.; Shibuya, H. Bioproduction of *Cinchona* alkaloids by the endophytic fungus *Diaporthe* sp. associated with *Cinchona ledgeriana*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 60, n. 10, p. 1301 - 1304, 2012. DOI: 10.1248/cpb.c12-00545.
- Maehara, S.; Agusta, A.; Tokunaga, Y.; Shibuya, H.; Hata, T. Endophyte composition and *Cinchona* alkaloid production abilities of *Cinchona ledgeriana* cultivated in Japan. **Journal of Natural Medicines**, v. 73, p. 431–438, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11418-018-1273-z>.
- MAPA - Ministério da Agricultura e Pecuária. Produtos fitossanitários com uso aprovado na agricultura orgânica. dez 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/produtos-fitossanitarios/copy6_of_RegistrosFITORGAAtualizada31122023.pdf>. Acesso em: 14 jan 2024.
- Martins, D.; Nunez, C. V. Secondary metabolites from Rubiaceae species. **Molecules**, v. 20, p. 13422 - 13495, 2015. DOI: 10.3390/molecules200713422.
- Meletiadis, J.; Meis, J. F. G. M.; Mouton, J. W.; Verweij, P. E. Analysis of growth characteristics of filamentous fungi in different nutrient media. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 478-484, 2001.

- Mishra, P. D.; Vereka, S. A.; Kulkarni-Almeida, A.; Roy, S. K.; Jain, S.; Balakrishnan, A., *et al.* Anti-inflammatory and anti-diabetic naphthaquinones from an endophytic fungus *Dendryphion nanum* (Nees) S. Hughes. **Indian Journal of Chemistry**, v. 52B, p. 565 - 567, 2013.
- Moghadam, A. A.; Shuai, W.; Hartmann, E. M. Anthropogenic antimicrobial micropollutants and their implications for agriculture. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 80, n. 102902, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2023.102902>.
- Mohanty, A.; Saini, G. K. Cytochalasin D as a potential MAPK family inhibitor for treating triple-negative breast cancer. **Molecular Simulation**, v. 51, n. 3, p. 153–164, 2025. <https://doi.org/10.1080/08927022.2025.2466770>
- Monte, D. F.; Lincopan, N.; Fedorka-Cray, P. J.; Landgraf, M. Current insights on high priority antibiotic-resistant *Salmonella enterica* in food and foodstuffs: a review. **Current Opinion in Food Science**, v. 26, o. 35 - 46, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.03.004>.
- Moreno, E.; Varughese, T.; Spadafora, C.; Arnold, A. E.; Coley, P. D.; Kursar, T. A. chemical constituents of the new endophytic fungus *Mycosphaerella* sp. nov. and their anti-parasitic activity. **Natural Product Communications**, v. 6, n. 6, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578X1100600620>.
- Moura, V. M. de; Ames, F. Q.; Corrêa, J. G. S.; Peixoto, M. A.; Amorim, A. M. A.; Pomini, A. M., *et al.* Cytotoxicity and anti-inflammatory effects of the extract, fractions and alkaloids from *Palicourea minutiflora* (Rubiaceae). **Natural Product Research**, v. 35, n. 22, p. 4715–4719, 2020. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1710704>
- Munita, J M.; Arias, C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. In: Kudva, I. T.; Cornick, N. A.; Plummer, P. J.; Zhang, Q.; Nicholson, T. L.; Bannantine, J. P. (Ed.). **Virulence mechanisms of bacterial pathogens**. 2016, 5 ed. American Society for Microbiology, cap. 17, p. 481 - 511. DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
- Murray, C. J. L.; Ikuta, K. S.; Sharara, F.; Swetschinski, L.; Aguilar, G. R.; Gray, A., *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **Lancet**, vol. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022. DOI :10.1016/S0140-6736(21)02724-0.

- Naidu, J. R.; Ismail. R.; Sasidharan, N. Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of methanol extract of *Mentha spicata* L (Lamiaceae). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 1, p. 101 - 107, 2014. DOI: 10.4314/tjpr.v13i1.15.
- Narkhede, H. I.; Dhake, A. S.; Surana, A. R. Synthesis and screening of thiosemicarbazide-dithiocarbamate conjugates for antioxidant and anticancer activities. **Bioorganic Chemistry**, v. 124, n. 105832, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105832>.
- Náthia-Neves, G.; Vardanega, R.; Meireles, A. A. Extraction of natural blue colorant from *Genipa americana* L. using green technologies: techno-economic evaluation. **Food and Bioproducts Processing**, v. 114, p. 132 - 143, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.12.004>.
- Ntungwe, N. E.; Domínguez-Martín, M. E.; Roberto, A.; Tavares, J.; Isca, M. S. V.; Pereira, P. *Artemia* species: an important tool to screen general toxicity samples, **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 24, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.2174/1381612826666200406083035>.
- O'Hagan, D.; Rogers, S. V.; Duffin, G. R.; Edwards, R. L. Biosynthesis of the fungal polyketide, cubensic acid from *Xylaria cubensis*. **Tetrahedron Letters**, v. 33, n. 38, p. 5585-5588, 1992.
- Okaiyeto, S. A.; Sutar, P. P.; Chen, C.; Ni, J.-B.; Wang, J.; Mujumdar, A. S., *et al.* Antibiotic resistant bacteria in food systems: current status, resistance mechanisms, and mitigation strategies. **Agriculture Communications**, v. 2, n. 100027, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agrcom.2024.100027>.
- Okane, I.; Srikritikulchai, P.; Tabuchi, Y.; Sivichai, S.; Nakagiri, A. Recognition and characterization of four Thai xylariaceous fungi inhabiting various tropical foliages as endophytes by DNA sequences and host plant preference. **Mycoscience**, v. 53, p. 122–132, 2012. doi: <https://doi.org/10.1007/s10267-011-0149-9>
- Okane, I.; Toyama, K.; Nakagiri, A.; Suzuki, K.; Srikritikulchai, P.; Sivichai, S., *et al.* Study of endophytic Xylariaceae in Thailand: diversity and taxonomy inferred from rDNA sequence analyses with saprobes forming fruit bodies in the field. **Mycoscience**, v. 49, n. 6, p. 359–372, 2008. doi:10.1007/s10267-008-0440-6

- Oliveira, F. O. de P.; Santos, V. T. dos; Nascimento, A. S. do; Maegawa, R. N. Validação do produto Bioisca® no controle de formigas cortadeiras *Atta sexdens sexdens* e *Acromyrmex balzani*, em área de produção orgânica na região da Chapada Diamantina, Bahia. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 24., 2016, São Luís. **Resumo em anais e proceedings**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016.
- Oliveira, J. G. de S. **Bioprospecção de alcaloides em extratos de fungos endofíticos de *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae)**. 2018. 162 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2018.
- Oliveira, P. S. d'; Brighenti, A. M.; Oliveira, V. M.; Miranda, J. E. C. **Plantas tóxicas em pastagens: cafezinho (*Palicourea marcgravii* St. Hill, Família Rubiaceae)**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 8 p., 2018.
- Omoarelojie, L. O.; van Staden, J. Plant-endophytic fungi interactions: A strigolactone perspective. **South African Journal of Botany**, v. 134, p. 280-284, nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.02.009>.
- Omomowo, I. O.; Amao, J. A.; Abubakar, A.; Ogundola, A. F.; Ezediuno, L. O.; Bamigboye, C. O. A review on the trends of endophytic fungi bioactivities. **Scientific African**, v. 20, n. e01594, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01594>.
- Organização Mundial da Saúde (OMS). Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis. Geneva: World Health Organization, 2017.
- Organização Mundial da Saúde (OMS). Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022. Geneva: World Health Organization, 2022.
- Osono, T.; To-Anun, C.; Hagiwara, Y.; Hirose, D. Decomposition of wood, petiole and leaf litter by *Xylaria* species from northern Thailand. **Fungal Ecology**, v. 4, p. 210-218, 2011. doi: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2010.11.003>
- Pan, X.; Chen, Z.; Chen, Y.; Lei, J.; Chen, X.; Wu, T., *et al.* Two new species of *Xylaria* (Xylariaceae, Ascomycota) associated with fallen leaves in Hainan Tropical Rainforest National Park, China. **MycoKeys**, v. 112, p. 17-34, 2025. doi: <https://doi.org/10.3897/mycokeys.112.140487>

- Park, J.-H.; Choi, G. J.; Lee, H. B.; Kim, K. M.; Jung, H. S.; Lee, S.-W. *et al.* Griseofulvin from *Xylaria* sp. strain F0010, an endophytic fungus of *Abies holophylla* and its antifungal activity against plant pathogenic fungi. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 112-117, 2005.
- Parra, A. L.; Silva, R. Y.; Guerra, I. S.; Buela, L. I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 395 - 400, 2001.
- Parthasarathy, R.; Shanmuganathan, R.; Pugazhendhi, A. Vinblastine production by the endophytic fungus *Curvularia verruculosa* from the leaves of *Catharanthus roseus* and its in vitro cytotoxicity against HeLa cell line. **Analytical Biochemistry**, v. 593, n. 113530, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2019.113530>.
- Peng, W.-F.; Wang, X.; Hong, Z.; Zhu, G.-X.; Li, B.-M.; Li, Z. The anti-depression effect of *Xylaria nigripes* in patients with epilepsy: a multicenter randomized double-blind study. **Seizure**, v. 29, p. 26-33, 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seizure.2015.03.014>
- Pereira, J. O.; Souza, A. Q. L.; Souza, A. D. L.; França, S. C.; Oliveira, L. A. Overview on biodiversity, chemistry, and biotechnological potential of microorganisms from the brazilian Amazon. In: Azevedo, J. L.; Quecine, M. C. (Ed.). **Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics**. Springer Nature, 2017, cap. 5, p. 71 - 103.
- Persoone, G.; Wells, P. *Artemia* in aquatic toxicology: a review. In: Sorgelons, P.; Bengtson, D. A.; Decler, W.; Jaspers, E. (Ed.). **Artemia Research and its Applications**. Bélgica: Universa Press, 1987, p. 259 - 275.
- Petrini, O. Fungal endophytes of tree leaves. In: Andrews, J. H.; Hirano, S. S (ed.). **Microbial ecology of leaves**. Brock/Springer series in contemporary bioscience, 1991, cap. 9, p. 179 - 197. DOI: 10.1007/978-1-4612-3168-4
- Pinheiro, R. P.; Moraes, M. A.; Santos, B. C. S.; Fabri, R. L.; Del-Vechio-Vieira, G.; Yamamoto, C. H., *et al.* Identification of compounds from *Palicourea rigida* leaves with topical anti-inflammatory potential using experimental models. **Inflammopharmacology**, v. 26, p. 1005-1016, 2018. doi: <https://doi.org/10.1007/s10787-017-0415-3>

- POWO (2024). "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://www.plantsoftheworldonline.org/> Retrieved 07 May 2024."
- Ramesh, V.; Arivudainambi, U; Thalavaipandian, A.; Karunakaran, C.; Rajendran, A. Antibacterial activity of wild *Xylaria* sp. strain R005 (Ascomycetes) against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. **International Journal of Medicinal Mushrooms**. v. 14, n. 1, p. 47-53, 2012. doi: 10.1615/intjmedmushr.v14.i1.50
- Rajabi, S.; Ramazani, A.; Hamidi, M.; Nadi, T. *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 20, 2015.
- Rajendran, S.; Robertson, L. P.; Kosgahakumbura, L.; Fernando, C.; Göransson, U.; Wang, H. Antibacterial eremophilane sesquiterpenoids from *Xylaria feejeensis*, an endophytic fungi of the medicinal plant *Geophila repens*. **Fitoterapia**, v. 167, n. 105296, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105496>.
- Ramatla, T.; Ramaili, T.; Lekota, K. E.; Ndou, R.; Mphuti, N.; Bezuidenhout, C.; *et al.* A systematic review and meta-analysis on prevalence and antimicrobial resistance profile of *Escherichia coli* isolated from water in Africa (2000–2021). **Heliyon**, v. 9, n. e16123, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16123>
- Ramatla, T.; Mokgokong, P.; Lekota, K.; Thekiso, O. Antimicrobial resistance profiles of *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from broiler chickens. **Food Microbiology**, v. 120, n. 104476, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104476>.
- Rana, K. L.; Kour, D.; Sheikh, I.; Dhiman, A.; Yadav, N.; Yadav, A. N., *et al.* Endophytic fungi: biodiversity, ecological significance, and potential industrial applications. In: Yadav, A.; Mishra, S.; Singh, S.; Gupta, A. (ed.). **Recent advancement in white biotechnology through fungi**, Fungal Biology, Springer, Cham. 2019, cap. 1, p. 1 - 62. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1_1

- Rangel-Grimaldo, M.; Rivero-Cruz, I.; Madariaga-Mazón, A.; Figueroa, M.; Mata, R. α -Glucosidase inhibitors from *Preussia minimoides*. **Journal of Natural Products**, v. 80, p. 582 - 587, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00574>.
- Rasmussen-Ivey, C. R.; Figueras, M. J.; McGarey, D.; Liles, M. R. Virulence factors of *Aeromonas hydrophila*: in the wake of reclassification. **Frontiers Microbiology**, v. 7, n. 1337, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01337>
- Rehman, S. A parallel and silent emerging pandemic: antimicrobial resistance (AMR) amid COVID-19 pandemic. **Journal of Infection and Public Health**, v. 16, p. 611–617, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2023.02.021>
- Riet-Correa, F.; Machado, M.; Micheloud, J. F. Plants causing poisoning outbreaks of livestock in South America: a review. **Toxicon**, v. 17, p. 100150, 2023. doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2023.100150>
- Rivera-Chávez, J.; Figueroa, M.; González, M. C.; Glenn, A. E.; Mata, R. α -Glucosidase inhibitors from a *Xylaria feejeensis* associated with *Hintonia latiflora*. **Journal of Natural Products**. v. 78, n. 4, p. 730–735, 2015, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/np500897y>
- Rogers, J. D. *Xylaria cubensis* and its anamorph *Xylocoremium flabelliforme*, *Xylaria allantoidea*, and *Xylaria poitei* in continental United States. **Mycologia**, v. 76, n. 5, p. 912–923, 1984. doi:10.1080/00275514.1984.120239
- Rojas-Duran, R.; González-Aspajo, G.; Ruiz-Martel, C.; Bourdy, G.; Doroteo-Ortega, V. H.; Alban-Castillo, J., *et al.* Anti-inflammatory activity of Mitraphylline isolated from *Uncaria tomentosa* bark. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 801 - 804, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2012.07.015>.
- Ruhal, R.; Kataria, R. Biofilm patterns in gram-positive and gram-negative bacteria. **Microbiological Research**, v. 251, n. 126829, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126829>.
- Rusch, M.; Spielmeier, A.; Zorn, H.; Hamcher, G. Biotransformation of ciprofloxacin by *Xylaria longipes*: structure elucidation and residual antibacterial activity of metabolites. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, p. 8573-8584, 2018. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9231-y>

- Saifi, S.; Ashraf, A.; Hasan, G. M.; Shamsi, A.; Hassan, M. I. Insights into the preventive actions of natural compounds against *Klebsiella pneumoniae* infections and drug resistance. **Fitoterapia**, v. 173, n. 105811, 2024. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105811>.
- Salazar-Cerezo, S.; de Vries, R. P.; Garrigues, S. Strategies for the development of industrial fungal producing strains. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 834, 2023. doi: <https://doi.org/10.3390/jof9080834>.
- Samutela, M. T.; Kwenda, G.; Simulundu, E.; Nkhoma, P.; Higashi, H.; Frey, A.; Bates, M., *et al.* Pigs as a potential source of emerging livestock-associated *Staphylococcus aureus* in Africa: a systematic review. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 109, p. 38 - 49, 2021.
- Sandner-Miranda, L.; Vinuesa, P.; Cravioto, A.; Morales-Espinosa, R. The genomic basis of intrinsic and acquired antibiotic resistance in the genus *Serratia*. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 828, 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.00828.
- Santos, I. R.; Abdel-Azeem, A. M.; Mohesien, M. T.; Piekutowska, M.; Sheir, D. H.; Silva, L. L., *et al.* Insights into the bioprospecting of the endophytic fungi of the medicinal plant *Palicourea rigida* Kunth (Rubiaceae): detailed biological activities. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 689, 2021. doi: <https://doi.org/10.3390/jof7090689>
- Santos, I. R.; Raiter, J.; Pont, T. P. D.; Brunner, C. B.; Lopes, B. C.; Cecco, B. S., *et al.* Pathology of *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotype *typhimurium* infection in chinchillas (*Chinchilla lanigera*). **Journal of Comparative Pathology**, v. 194, p. 14 - 21, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2022.03.004>.
- Santos, M. B. V.; Oliveira, A. B.; Mourão, R. H. V. Brazilian plants with antimalarial activity: a review of the period from 2011 to 2022. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 322, n. 117595, 2024. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117595>.
- Sathe, N.; Beech, P.; Craft, L.; Suphioglu, C.; Kapat, A.; Athan, E. *Pseudomonas aeruginosa*: Infections and novel approaches to treatment “Knowing the enemy” the threat of *Pseudomonas aeruginosa* and exploring novel approaches to treatment. **Infectious Medicine**, v. 2, 3, p. 178 - 194, 2023.

- Santivañez, J. C. M.; Figueiredo Angolini, C. F. The genus *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae): source of bioactive compounds. **Natural Product Research**, p. 1–15. 2024. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2449510>
- Sawadsitang, S.; Mongkolthanaruk, W.; Suwannasai, Nuttika; Sodngam, S. Antimalarial and cytotoxic constituents of *Xylaria* cf. *cubensis* PK108. **Natural Product Research**, v. 29, n. 21, p. 2033–2036, 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2015.1017724>
- Schliwa, M. Action of cytochalasin D on cytoskeletal networks. **The Journal of Cell Biology**, v. 92, n. 1, p. 79–91, 1982. doi:10.1083/jcb.92.1.79
- Segala, F. V.; Bavaro, D. F.; Di Gennaro, F.; Salvati, F.; Marotta, C.; Saracino, A.; Murri, R.; Fantoni, M. Impact of SARS-CoV-2 epidemic on antimicrobial resistance: a literature review. **Viruses**, v. 13, n. 2110, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13112110>.
- Semwal, A.; Kumar, A.; Kumar, N. A review on pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and their mitigation through medicinal herbs in aquaculture. **Heliyon**, v. 9, n. e14088, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14088>
- Sereno, A. B.; Pinto, C. D.; Gibbert, L.; de Andrade, M. T. P.; da Silva, M. A. B.; Etgeton, S. A. P., *et al.* Cytotoxic and phytotoxic activities of native Brazilian forest gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.), fruits, and flour against shrimp (*Artemia salina* L.) and lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Foods**, v. 13, n. 123, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods13010123>.
- Sheik, S.; Chandrashekar, K. R.; Shirlal, S. Endophytic fungi associated with *Psychotria flavida* Talbot., an endemic plant of Western Ghats (India) and their bioactive potential. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 18, p. 149 - 158, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13596-018-0308-z>.
- Shin, H. Y.; Lee, E. H.; Shin, T. Y.; Kim, H. M. Effect of cytochalasin D on systemic and local anaphylaxis in a murine model. **Pharmacological Research**, v. 36, p. 141–146, 1997.
- Sica, V. P.; Rees, E. R.; Tchegnon, E.; Bardsley, R. H.; Raja, H. A.; Oberlies, N. H. Spatial and temporal profiling of griseofulvin production in *Xylaria cubensis* using mass spectrometry mapping. **Frontiers in Microbiology**. v. 7, p. 544, 2016. doi: 10.3389/fmicb.2016.00544

- Sieber, T. N. Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists?. **Fungal Biology Reviews**, v. 21, p. 76 - 89, 2007.
- Silva, A. V. C. da; Ledo, A. da S.; Melo, M. F. de V. *Genipa americana*: Jenipapo. In: Coradin, L.; Camillo, J.; Pareyn, F. G. C. (Ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste**. (Série Biodiversidade; 51), Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, cap. 5, p. 169 - 176, 2018.
- Silva, W. C.; Martins, J. R. S.; Cesio, M. V.; Azevedo, J. L.; Heinzen, H.; Barros, N. M. Acaricidal activity of *Palicourea marcgravii*, a species from the Amazon forest, on cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 179, p. 189 - 194, 2011. doi:10.1016/j.vetpar.2011.02.010
- Silva, W. L. **Estudo químico e biológico de fungos endofíticos de *Palicourea corymbifera* (Rubiaceae)**. 2020. 131 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2020.
- Silva, W. L.; Lima, L. M.; Nunez, C. V. Evaluation of the phytotoxic effect of extracts from endophytic fungi *Colletotrichum dianesei* and *Xylaria* sp. isolated from *Palicourea corymbifera* (Rubiaceae). **Agrociencia Uruguay**, v. 24, n. NE2, 423, 2020. doi: 10.31285/AGRO.24.423
- Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7. ed. New York: John Wiley & Sons, INC, 2005. 502 p.
- Souza, A. Q. L.; Souza, A. D. L.; Astolfi Filho, S.; Belém Pinheiro, M. L.; Sarquis, M. I. M.; Pereira, J. O. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (Aubl.) rich e *Strychnos cogens* Benth. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 2, p. 185-195, 2004.
- Souza, A. Q. L. **Potencial genético e químico dos endófitos de *Murraya paniculata* L. (Jack)**. 2006. 128 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal da São Carlos, São Carlos, 2006.
- Spinelli R.; Rietmann, A.; Sanchis, I.; Goicoechea, H.; Siano, A. S. Toxicity evaluation of anti-cholinesterasic amphibian extracts by MTT and an optimized *Artemia salina* test.

Chemistry & Biodiversity, n. e202301367, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202301367>.

- Stierle, A.; Strobel, G.; Stierle, D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific Yew. **Science**, v. 260, p. 214 - 216, 1993.
- Stone, J. K.; Polishook, J. D.; White, J. F. Endophytic fungi, In: Mueller, G. M.; Bills, G. F.; Foster, M. S. (ed.). **Biodiversity of fungi**, Elsevier Academic Press, 2004, cap. 12, p.241 - 270. DOI: 10.13140/RG.2.1.2497.0726.
- Strobel, G. Endophytes as sources of bioactive products. **Microbes and Infection**, v. 5, p. 535–544, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(03\)00073-X](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(03)00073-X).
- Suresh, G.; Kokila, D.; Suresh, T. C.; Kumaran, S.; Velmurugan, P.; Vedhanayakisri, K. A. Mycosynthesis of anticancer drug taxol by *Aspergillus oryzae*, an endophyte of *Tarenna asiatica*, characterization, and its activity against a human lung cancer cell line. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 24, n. 101525, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101525>.
- Takanezawa, Y.; Nakamura, R.; Sone, Y.; Uraguchi, S.; Kobayashi, K.; Hiroshi, T.; *et al.* Variation in the activity of distinct cytochalasins as autophagy inhibitors in human lung A549 cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 494, p. 641 - 647, 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.135>
- Tan, M. A.; Eusebio, J. A.; Alejandro, G. J. D. Chemotaxonomic implications of the absence of alkaloids in *Psychotria gitingensis*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 45, p. 20 - 22, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2012.07.016>.
- Tataru, A.-M.; Canciu, A.; Tertis, M.; Cristea, C.; Cernat, A. *Staphylococcus aureus* – Review on potential targets for sensors development. **Bioelectrochemistry**, v. 153, n. 108492, 2023.
- Tavares-Carreón, F.; Anda-Mora, K.; Rojas-Barrera, I.C.; Andrade, A. *Serratia marcescens* antibiotic resistance mechanisms of an opportunistic pathogen: a literature review. **PeerJ**, v. 11, n. e14399, 2023. DOI: <http://doi.org/10.7717/peerj.14399>
- Taylor, C. M. Overview of the Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. **Opera Botanica Belgica**, p. 261-270, 1996.

- Taylor, C. M. *Rubiacearum americanarum magna hama pars XLV*: more new species and taxonomic changes in *Palicourea* (Rubiaceae, Palicoureeae) and *Psychotria* subg. *Heteropsychotria*. **Novon**, v. 27, p. 165-195, 2019. doi: <https://doi.org/10.3417/2019387>
- Taylor, C. M.; Bruniera, C. P.; Zappi, D. C. Taxonomic transfers in Neotropical Palicoureeae: new combinations in *Rudgea* and *Palicourea*. **Kew Bulletin**, v. 70, n. 45, 2015. doi: 10.1007/S12225-015-9596-3
- Taylor, C. M.; Campos, M. T. V. A.; Zappi, D. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Rubiaceae. **Rodriguésia**, v. 58, n. 3, p. 549 - 616, 2007.
- Taylor, C. M.; Lorence, D. H.; Gereau, R. E. *Rubiacearum americanarum magna hama pars XXV*: The nocturnally flowering species of *Psychotria domingensis-Coussarea hondensis* group plus three other Mesoamerican *Psychotria* species transfer to *Palicourea*. **Novon**, v. 20, n. 4, p. 481-492, 2010. doi: 10.3417/2009124
- Thomas, D. C.; Vandergrift, R.; Ludden, A.; Carroll, G. C.; Roy, B. A. Spatial ecology of the fungal genus *Xylaria* in a tropical cloud forest. **Biotropica**, v. 43, n. 3, p. 381-393, 2016. doi: <https://doi.org/10.1111/btp.12273>
- Torres, G. A. L.; Campos, C. N.; Salomon, M. V.; Pantano, A. P.; Almeida, J. A. S. *Coffea arabica* L: history, phenology and climatic aptitude of the state of São Paulo, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 88, n. e00602020, p. 1 - 12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000602020>.
- Trendowski, M. Using cytochalasins to improve current chemotherapeutic approaches. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 1, p. 327-335, 2015.
- Tropicos.org. **Rubiaceae Juss.** Missouri Botanical Garden. Disponível em: <https://tropicos.org/name/42000315>>. Acesso em 04 jan 2024.
- Ubiali, D. G.; Cardoso, L. F. C. G.; Pires, C. A.; Riet-Correa, F. *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) poisoning in cattle grazing in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 52, p. 3527–3535, 2020. doi: <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02388-2>

- Udayan, S. P.; Hariharan, S.; Nevin, K. G. Multifaceted bioactivity of marine fungal derived secondary metabolite, xyloketal B - a review. **Toxicology Research**, v. 13, n. 5, 2024. doi: <https://doi.org/10.1093/toxres/tfae156>
- Udegbumam, I. S.; Ajiwe, V. I.; Odoh, R.; Iyen, C.; Ghibono, S.; Ngantem, G.,; *et al.* Chromatographic assay, antimicrobial analysis and structural elucidation of bioactive compounds of *Palicourea croceiodes* leaves extract. **American Journal of Biological Chemistry**. v. 5, n. 2, p. 6-14, 2018.
- Ulloa-Benítez, Á.; Medina-Romero, Y. M.; Sánchez-Fernández, R. E.; Lappe-Oliveras, P.; Roque-Flores, G.; Duarte Lisci, G., *et al.* Phytotoxic and antimicrobial activity of volatile and semi-volatile organic compounds from the endophyte *Hypoxylon anthochroum* strain Blaci isolated from *Bursera lancifolia* (Burseraceae). **Journal of Applied Microbiology**. v. 121, n. 2, p. 380-400, 2016. doi: 10.1111/jam.13174.
- Valli, M.; Souza, J. M.; Chelucci, R. C.; Biasetto, C. R.; Araujo, A. R.; Bolzani, V. S., *et al.* Identification of natural cytochalasins as leads for neglected tropical diseases drug discovery. **PLoS ONE**, v. 17, n. 10, e0275002, 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0275002>
- Van der Gucht, K. Illustrations and descriptions of xylariaceous fungi collected in Papua New Guinea. **Bulletin Du Jardin Botanique National de Belgique**, v. 64, n. 3/4, p. 219-403, 1995. doi:10.2307/3668386
- van Stappen, G. Zoogeography. In: Abatzopoulos, Th. J.; Beardmore, J. A .; Clegg, J. S.; Sorgeloos, P (ed.). **Artemia: basic and applied biology**, Springer Dordrecht, 2002, cap. 4, p. 171 - 224, DOI: 10.1007/978-94-017-0791-6.
- Verma, V. C.; Singh, S. K.; Kharwar, R. N. Histological investigation of fungal endophytes in healthy tissues of *Azadirachta indica* A. Juss. **Kasetsart Journal - Natural Science**, v. 46, p. 229-237, 2012.
- Verma, V.; Ravindran, P.; Kumar, P. P. Plant hormone-mediated regulation of stress responses. **BMC Plant Biology**, v. 16, p. 86, abr. 2016. DOI: 10.1186/s12870-016-0771-y.

- Wang, J.; Qin, X.; Chen, Z.; Ju, Z.; He, W.; Tan, Y., *et al.* Two new anthraquinones with antiviral activities from the barks of *Morinda citrifolia* (Noni). **Phytochemistry Letters**, v. 15, p. 13-15, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2015.11.006>.
- Wang, J.-F.; Huang, R.; Song, Z.-Q.; Yang, Q.-R.; Li, X.-P.; Lu, S.-S., *et al.* Polyhydroxylated sesquiterpenes and ergostane glycosides produced by the endophytic fungus *Xylaria* sp. from *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 199, n. 113188, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113188>
- Wang, X.; Liu, J.; Li, A. Incidence and risk factors for subsequent infections among rectal carriers with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Hospital Infection**, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2023.12.002>.
- Wang, J.-L.; Zhang, J.-L.; Chen, W.; Xu, X.-F.; Gao, N.; Fan, D.-Y., *et al.* Roles of small GTPase Rac1 in the regulation of actin cytoskeleton during dengue virus infection. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 8, p. e809, 2010. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000809>
- Wawra, S.; Fesel, P.; Widmer, H.; Timm, M.; Seibel, J.; Leson, L., *et al.* The fungal-specific β -glucan-binding lectin FGB1 alters cell-wall composition and suppresses glucan-triggered immunity in plants. **Nature Communications**, v. 7, n. 13188, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms13188>.
- Wei, S.-S.; Lai, J.-Y.; Chen, C.; Zhang, Y.-J.; Nong, X.-M.; Qiu, K.-D., *et al.* Sesquiterpenes and α -pyrones from an endophytic fungus *Xylaria curta* YSJ-5. **Phytochemistry**, v. 220, n. 114011, 2024. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2024.114011>
- Wen, J.; Okyere, S. K.; Wang, S.; Wang, J.; Xie, L.; Ran, Y., *et al.* Endophytic fungi: an effective alternative source of plant-derived bioactive compounds for pharmacological studies. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 205, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof8020205>.
- WFO - World Flora Online. **Rubiaceae Juss.** 2024. Disponível em: <<http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-7000000534>>. Acesso em: 04 jan 2024.
- Wu, S.-H.; He, J.; Li, X.-N.; Huang, R.; Song, F.; Chen, Y.-W., *et al.* Guaiane sesquiterpenes and isopimarane diterpenes from an endophytic fungus *Xylaria* sp. **Phytochemistry**, v. 105, p. 197-204, 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.04.016>

- Xiao, Z.; Goraya, M. U.; Ali, L.; Chen, X.; Yu, D. Nitrogen and phosphorus eutrophication enhance biofilm-related drug resistance in *Enterococcus faecalis* isolated from water sources. **Microbial Pathogenesis**, v. 186, n.106501, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106501>.
- Xu, Z.-L.; Li, B.-C.; Huang, L.-L.; Lv, L.-X.; Luo, Y.; Xu, W.-F., *et al.* Two new cytochalasins from the endophytic fungus *Xylaria* sp. GDGJ-77B. **Natural Product Research**, v. 38, n. 9, p. 1503-1509, 2022. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2153362>
- Yan, L.; Zhao, H.; Zhao, X.; Xu, X.; Di, Y.; Jiang, C., *et al.* Production of bioproducts by endophytic fungi: chemical ecology, biotechnological applications, bottlenecks, and solutions. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, p. 6279–6298, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9101-7>
- Yan, L.; Zhu, J.; Zhao, X.; Shi, J.; Jiang, C.; Shao, D. Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p. 3327–3340, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09713-2>.
- Yazbek, P. B.; Tezoto, J.; Cassas, F.; Rodrigues, E. Plants used during maternity, menstrual cycle and other women's health conditions among Brazilian cultures. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 179, p. 310-331, 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.054>
- Yuan, Y.-Y.; Li, Y.; Li, J.; Lu, W.-Y.; Liang, A.-L.; Xu, P.-J., *et al.* Chemical constituents from a soil fungus *Xylaria* sp. Y01 and their anticancer potential. **Journal of Molecular Structure**, v. 1321, n. 140274, 2025. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140274>
- Yuyama, K.T.; Wendt, L.; Surup, F.; Kretz, R.; Chepkirui, C.; Wittstein, K.; *et al.* Cytochalasans act as inhibitors of biofilm formation of *Staphylococcus aureus*. **Biomolecules**, v. 8, n. 4, p. 129, 2018. doi: <https://doi.org/10.3390/biom8040129>
- Zeng, Y. -B.; Wang, H.; Zuo, W. -J.; Zheng, B.; Yang, T.; Dai, H. -F.; *et al.* A fatty acid glycoside from a marine-derived fungus isolated from mangrove plant *Scyphiphora hydrophyllacea*. **Marine Drugs**, v. 10, p. 598 - 603, 2012. DOI: 10.3390/md10030598.

- Zhang, J.; Liu, D.; Wang, H.; Liu, T.; Xin, Z. Fusartricin, a sesquiterpenoid ether produced by an endophytic fungus *Fusarium tricinctum* Salicorn 19. **European Food Research and Technology**, v. 240, n. 4, p. 805 - 814, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007%2Fs00217-014-2386-6>.
- Zhao, J. H.; Zhang, Y. L.; Wang, L. W.; Wang, J. Y.; Zhang, C. L. Bioactive secondary metabolites from *Nigrospora* sp. LLGLM003, an endophytic fungus of the medicinal plant *Moringa oleifera* Lam. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 2107-2112, 2012. doi: 10.1007/s11274-012-1015-4
- Zheng, R.; Li, S.; Zhang, X.; Zhao, C. Biological activities of some new secondary metabolites isolated from endophytic fungi: a review study. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 22, n. 959, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22020959>
- Zhou, H.; Wang, Q.-T.; Tong, X.; Hou, C.-L. Phylogenetic analysis of *Engleromyces sinensis* and identification of cytochalasin D from culture. **Mycological Progress**, v. 20, p. 1343–1352, 2021. doi: <https://doi.org/10.1007/s11557-021-01739-z>
- Zhu, A.H.; Song, Z.-K.; Wang, J.-F.; Guan, H.-W.; Qu, Z.; Ma, H.-X. Multi-gene phylogenetic and taxonomic contributions to *Xylaria* (Ascomycota) associated with fallen fruits from China. **MycoKeys**, v. 13, n. 106, p. 13-41, 2024. doi: <https://doi.org/10.3897/mycokeys.106.124944>