



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
CAMPUS PARNAÍBA
CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA

FRANCISCO FELIPE DOS SANTOS

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS ISOLADOS A PARTIR DE FUNGOS
ENTOMOPATOGÊNICOS

PARNAÍBA-PI
MARÇO/2018

FRANCISCO FELIPE DOS SANTOS

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS ISOLADOS A PARTIR DE FUNGOS
ENTOMOPATOGÊNICOS

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial para obtenção do
diploma do Curso de Licenciatura em Química do
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do
Piauí/Campus Parnaíba.

Orientador: Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho

PARNAÍBA-PI
MARÇO/2018

FRANCISCO FELIPE DOS SANTOS

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS ISOLADOS A PARTIR DE FUNGOS
ENTOMOPATOGÊNICOS

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial para obtenção do
diploma do Curso de Licenciatura em Química do
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do
Piauí/Campus Parnaíba.

Orientador: Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Bartholomeu de Araújo Barros Filho
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – *Campus* Parnaíba

Examinador 1: Prof^a. Dr^a. Buana Carvalho de Almeida
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – *Campus* Parnaíba

Examinador 2: Prof^a. Dr^a. Ana Maria Athayde Uchôa
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – *Campus* Parnaíba

Dedico esta monografia primeiramente a Deus por me manter de pé física e espiritualmente. A minha mãe Maria Genoveva dos Santos, meu padrasto Adaildo Lucas e aos meus avós. E a todos que contribuíram de forma significativa para que eu chegasse até aqui e ser a pessoa que sou hoje, sempre com palavras carregadas de amor, motivação e companheirismo que me deram forças necessárias para alcançar os meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que esteve sempre comigo em todos os momentos;

Aos meus familiares em especial a minha mãe Maria Genoveva dos Santos por sempre ter me dado forças, determinação e por nunca permitir que eu baixasse a cabeça perante às dificuldades, minha irmã Luana Maria dos Santos e aos meus avós, pessoas fundamentais e importantes na minha vida que contribuíram para que hoje eu chegasse até aqui;

A instituição formadora IFPI pela oferta do curso;

Ao meu orientador Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho, pela paciência, compreensão e disponibilidade para me ajudar no desenvolvimento deste trabalho;

Aos meus amigos de NS^a Sr^a dos Remédios que por mais longe que estivéssemos nunca deixaram de me apoiar provando a existência de amizades verdadeiras em especial à Luana Fortes, Alita Lima, minha querida professora, influenciadora e hoje colega de profissão Toinha Rocha, minha grande amiga Juliana Barbosa de Teresina que nas madrugadas sempre me fazia companhia nas lutas diárias de estudos, e os inúmeros amigos que tenho na minha querida terra natal;

A todos os colegas de curso em especial meus amigos Edson Aires, Danilo Franco, Rhuan Nascimento e Thomaz Oliveira pela ajuda em todos os momentos pelos quais eu mais precisei e pude contar com a ajuda de vocês, aos meus queridos amigos da Física Salvino Rocha, Gabriela Assis, Camila Santos, obrigado por cada palavra de motivação e por compartilharem suas ideias e pensamentos comigo, levarei cada um de vocês para onde quer que eu vá;

A minha querida amiga Michele de Moraes Brito, por sua grande contribuição para a elaboração deste trabalho, desde aos grandes conselhos tanto pessoais como acadêmicos, e também pelo grande aprendizado nas madrugadas de estudo;

A minha melhor amiga e “irmã” Luciane Pereira por sempre me ouvir e compreender e por me dá excelentes conselho, tendo influência positiva nesta minha caminhada;

De uma maneira muito especial agradeço também aos meus queridos professores supervisores do PIBID (Claúdia Pascoal e Everan Martins) pelas oportunidades concedidas a mim em sala de aula, eu aprendi muito, e muito grato eu sou pela confiança em mim depositada, vocês fazem parte disso, e eu levarei a imagem dos excelentes profissionais que vocês são;

Ao meu amigo e conterrâneo Herisson Souza pela hospitalidade no início do curso;

A Dona Zélia pessoa que além de proprietária do primeiro lugar onde morei, foi uma grande amiga fazendo por vezes papel de mãe ao conversar comigo me aconselhando quando me via em dificuldades, me motivando a nunca desistir e me ajudando sempre da melhor maneira possível;

Ao meu primo Valderi Alves e minha ex-professora de matemática Conceição Tito, pessoas que sempre me deram a mão em todos os momentos;

A todos os professores do curso, em especial a professora Evânia Carvalho pelo incentivo, professora Dr^a. Ana Maria Athayde Uchôa pelas orientações para que eu pudesse seguir com a escrita deste trabalho conforme as normatizações, por ser compreensiva e além de uma grande profissional, foi uma mais que uma professora, uma grande amiga que o curso deu não somente para mim, mas para os demais colegas do curso;

Professora Coordenadora Márcia Valéria pelas orientações e por sempre está disponível a ajudar em dúvidas relacionadas ao curso.

*O coração do homem planeja o seu
caminho, mas o Senhor lhe dirige os passos.
Provérbios 16:9*

RESUMO

Os fungos entomopatogênicos são os principais patógenos de insetos e produzem um grande número de moléculas bioativas, de interesses farmacológicos, industriais e econômicos. Dessa maneira, foi realizado um levantamento bibliográfico entre os anos de 2007 e 2017, com o objetivo de verificar o isolamento e aplicações dos metabólitos secundários provenientes destes fungos. Com base nos bancos de dados *Science direct* e *Web of science*, constatou-se a existência de 41 trabalhos que mostram o isolamento e aplicações de compostos provenientes dos fungos entomopatogênicos. Os resultados mostram que no período foram estudados 17 diferentes espécies destes fungos, isolados dos mais diversos insetos e cultivados em diferentes meios de cultura. Os artigos mostram o isolamento de 70 metabólitos secundários de diferentes classes. Desses artigos, 48,78 % relataram atividade farmacológica, 21,95% apontaram a criação de novos produtos agrícolas, 9,75 % aplicações na indústria de maneira geral e 19,52 % retrataram apenas o isolamento destes metabólitos.

Palavras-Chave: Atividades farmacológicas. Constituintes químicos. Levantamento bibliográfico. Isolamento.

ABSTRACT

The entomopathogenic fungi are pathogens of insects and produce a large number of bioactive molecules of pharmaceutical, industrial and economic interests. Thus a bibliographic survey was realized between the years 2007 and 2017, with the objective of verifying the isolation and applications of the secondary metabolites of dissemination of these fungi, based on the databases Direct Science and Web of Science. It was verified the existence of 41 works that show the isolation and applications of compounds derived from entomopathogenic fungi. The results show that in the period, 17 different species of these fungi were studied, isolated from the most diverse insects and grown in different culture media. The articles show the isolation of 70 secondary metabolites originated different classes. These articles, 48.78% of related to pharmacological activity, 21.95% pointed to the creation of new agricultural products, 9.75% applications in general industry and 19,52% showed only the isolation of these metabolites.

Keywords: Pharmacological activities. Chemical constituents. Bibliographic survey. Isolation.

LISTA DE FIGURAS E ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Estrutura básica das partes componentes de um fungo	17
FIGURA 2 – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários pirivodericina e piridomacrolidina	22
FIGURA 3 - Insetos infectados por fungos entomopatogênicos	24
FIGURA 4 - Fluxograma de representação do metabolismo fúngico	26
FIGURA 5 – Fórmula estrutural da Penicilina G, Cefalosporina e Ciclosporina .	28
FIGURA 6 – Fórmula estrutural da citocalasina D.....	29
FIGURA 7 – Fórmula estrutural da tirosina betaína isolada a partir do fungo <i>Metarhizium anisopliae</i>	35
FIGURA 8 – Fórmula estrutural das destruxinas isoladas do fungo <i>Metarhizium anisopliae</i>	36
FIGURA 9 – Fórmula estrutural da indolizidina proveniente das cepas do fungo <i>Metarhizium spp</i>	37
FIGURA 10 – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo <i>Metarhizium flavoviride</i>	38
FIGURA 11 – Fórmula estrutural dos metabólitos isolados do fungo <i>Torrubiella luteorostrata</i>	39
FIGURA 12A – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados dos fungos <i>Torrubiella luteorostrata</i>	40
FIGURA 12B – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados dos fungos <i>Torrubiella luteorostrata</i>	41
FIGURA 13 - Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo <i>Cordyceps indigotica</i>	42
FIGURA 14 – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo <i>Cordyceps annulata</i>	42
FIGURA 15 – Fórmula estrutural da 11-norbetaenona isolada do fungo <i>Lecanicillium antillanum</i>	43
FIGURA 16 – Fórmula estrutural das especiferonas isoladas do fungo entomopatogênico <i>Lecanicillium sp</i>	44
FIGURA 17 – Fórmula estrutural dos diterpenoides isolados do fungo <i>Paraconiothyrium hawaiiense</i>	45

FIGURA 18 – Fórmula estrutural da tenuipirona, um metabólito secundário isolado do fungo <i>Isaria tenuipes</i>	46
FIGURA 19 - Fórmula estrutural das isoriatinas isoladas do fungo <i>Isaria Tenuipes</i>	47
FIGURA 20 - Fórmula estrutural da fumosorinona, isolada do fungo <i>Isaria fumosorosea</i>	48
FIGURA 21A - Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo <i>Conoideocrella luteorostrata</i>	49
FIGURA 21B - Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo <i>Conoideocrella luteorostrata</i> Zimm. BCC 31648	50
FIGURA 22 - Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo <i>Aschersonia luteola</i>	52
FIGURA 23 - Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo <i>Hypocrella spp.</i> e seu anamorfo <i>Aschersonia</i>	52
FIGURA 24 - Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo <i>Aschersonia paraphysata</i> e seu telemorfo <i>Hococrella sp</i>	53
FIGURA 25 - Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo <i>Aschersonia calendulina</i>	54
FIGURA 26 - Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo <i>Aschersonia coffeae</i>	55
FIGURA 27 - Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo <i>Ophiocordyceps coccidiicola</i>	56
FIGURA 28 - Fórmula estrutural do éster metílico de ácido S - (-) - 10,11-dihidroxiirfásico isolado do fungo <i>Beauveria bassiana</i>	58
FIGURA 29 - Fórmula estrutural da beauvericina, metabólito secundário característico do fungo <i>Beauveria bassiana</i>	58
GRÁFICO 1 - Trabalhos publicados sobre metabólitos secundários de fungos entomopatogênicos, com atividade farmacológica, aplicação na indústria e na agricultura.....	33
GRÁFICO 2 - Valores de IC50 para atividade biológica.....	51

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Classificação e número de espécies dos filos do Reino Fungi.....	18
TABELA 2 - Meios de cultura e suas composições.....	20
TABELA 3 - Relação do número de trabalhos publicados por áreas de aplicação e as correspondentes espécies de fungos entre os anos de 2007-2017	34
TABELA 4 - Valores de IC50 dos compostos metarhizinas A e B, para quatro linhagens celulares cancerígenas	38
TABELA 5 - Comparação dos valores de IC50 para quatro diferentes linhagens cancerígenas humanas	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A549 – Adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells.

ASPC1 – Human pancreas adenocarcinoma ascites metastasis.

DNA – Deoxyribonucleic acid

AcOEt – Ethyl acetate.

HCT116 – Human colorectal carcinoma cell.

HeLa – Human carcinoma of the cervix.

HepG2 – Human hepatocarcinoma.

HL- 60 - Human carcinoma of promyelocytic leukemia.

IC50 – Inhibitory concentration for 50% of cells.

K562 – Erythroleukemic human carcinoma.

MCF-7 – Human breast carcinoma.

MDA-MB231 – Breast cancer cell line.

SW480 – Human rectal colon carcinoma.

T24 – Human bladder carcinoma.

THP1 – Leukemia cancer cell line.

NCI-H187 – Leukemia cancer cell line.

PDA – Potato dextrose agar broth.

PDB – Potato dextrose broth.

PTP-1B – Protein tyrosine phosphatase.

YM – Culture media containing yeast extracts.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1 MICOLOGIA	17
2.2 A UTILIZAÇÃO DE MEIOS DE CULTURA E OS MÉTODOS PARA O ISOLAMENTO DE FUNGOS	19
2.3 A IMPORTÂNCIA DOS FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS	21
2.4 CARACTERÍSTICAS DOS FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS	23
2.5 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	25
3 OBJETIVOS	30
3.1 OBJETIVO GERAL	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4 METODOLOGIA	31
4.1 TIPO DE PESQUISA	31
4.2 PROCEDIMENTO DA PESQUISA	31
4.2.1 Levantamento bibliográfico	31
4.2.2 Análise dos resultados	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS COM APLICAÇÃO FARMACOLÓGICA, INDÚSTRIAL E AGRÍCOLA	33
5.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO <i>Metarhizium</i>	35
5.3 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS E DO GÊNERO <i>Torribiella</i>	39
5.4 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO <i>Cordyceps</i>	41
5.5 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO <i>Lecanicillium</i>	43
5.6 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE FUNGOS DO GÊNERO <i>Paraconiothyrium</i>	44
5.7 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO <i>Isaria</i>	46
5.8 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO <i>Conoideocrella</i>	48

5.9	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO <i>Aschersonia</i>	51
5.10	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO <i>Ophiocordyceps</i>	55
5.11	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO <i>Beauveria</i>	57
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
	REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

Os fungos entomopatogênicos são microrganismos que parasitam insetos e durante esse processo produzem uma grande diversidade de metabólitos secundários que apresentam múltiplas atividades biológicas (ASAI et al., 2011). São inimigos naturais dos insetos, e dessa forma auxiliam na constante continuidade da população hospedeira, favorecendo o equilíbrio no meio ambiente. Esses fungos ocorrem com maior relevância em habitats aquáticos, florestais e agrícolas (ROY, 2010).

Os modos de ação contra os insetos envolvem algumas etapas que incluem a: ligação dos conídios à cutícula do inseto, germinação, penetração da cutícula e disseminação interna pelo inseto. Durante esse processo, enzimas secretadas, toxinas proteicas e metabólitos secundários são utilizados pelo fungo para superar o sistema imune do inseto, deixando-o incapacitado ou levando-o até a morte (ISAKA et al., 2005; MOLNÁR, 2010; VEGA et al., 2012).

Os fungos entomopatogênicos, quando encontram-se em complexo com o seu hospedeiro, constituem-se em uma fonte rica de moléculas bioativas de interesses farmacêuticos e industriais, isso ocorre devido a relação simbiótica hospedeiro-inseto que está diretamente ligada a produção de metabólitos secundários fúngicos, exibindo atividades variadas que podem ser utilizadas na produção de inseticidas, antibacterianos, antifúngicos, anticancerígenos, antioxidantes, antivirais, entre outros (PEDRAS et al., 2002; SCHMIDT et al., 2003; ISAKA et al., 2005; WANG, 2012).

Atualmente, no Brasil, os fungos são descritos como sendo um dos grupos de microrganismos vivos mais pesquisados. Apesar da existência de vários estudos voltados para essa área e o conhecimento detalhado sobre algumas espécies, verifica-se que a documentação dessas informações ainda se dá de maneira ascendente, visto que ainda há uma grande diversidade a ser explorada e que requer uma maior atenção (SILVA, 2016). Dependendo do local onde se encontram, estes fungos podem ter um crescimento lento ou acelerado, o que culmina ainda na inexploração de muitas das suas espécies, mostrando, desta maneira indícios de que há ainda muitas substâncias a serem descobertas (LOPES, 2011).

Considerando a importância químico-farmacológica dos fungos entomopatogênicos, realizou-se um levantamento bibliográfico dos metabólitos

secundários de fungos entomopatogênicos, com ênfase nos métodos de obtenção e atividades farmacológicas retratadas na literatura.

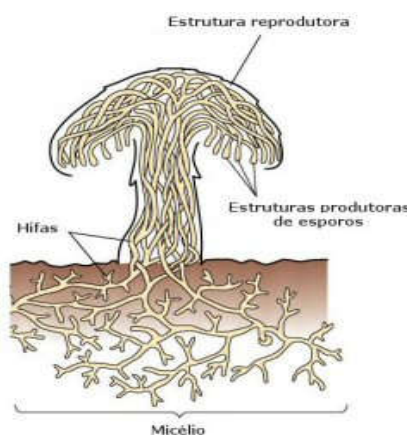
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 A MICOLOGIA

A micologia é a área da biologia que estuda os fungos, que são seres vivos de origem polifilética delimitados por membrana celular, caracterizados dessa maneira como seres eucariontes, muitos estudiosos os caracterizam em um único reino, o Fungi, baseada na definição dos cinco reinos feita por Whittaker em 1969 (LACAZ 2002; BENCHIMOL 2004 & MOLINARIO 2009). Por meio da micologia é possível identificar quais as espécies ou gêneros de fungos que podem trazer algum benefício ou malefício para os seres humanos (TORTORA et al., 2012).

Os fungos são seres eucariontes, unicelulares ou multicelulares, haploides, com paredes celulares, contendo quitina e α -glucano em sua composição. Seus meios de reprodução acontecem por meio de esporos sexuais e assexuais, sem a formação de embriões, e sua capacidade metabólica é restringida a heterotróficos, anaeróbios, aeróbicos e facultativos. São aclorofilados e a sua maior parte possui uma estrutura filamentosa (CRUZ, 2016). A estrutura básica das partes que compõem um fungo pode ser vista na Figura 1.

Figura 1 – Estrutura básica das partes componentes de um fungo.



Fonte: <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Reinos/biofungos2.php>.

A produção dos esporos ou conídios, e dos fatores de virulência dos fungos podem ser alterados de acordo com a ação de diversos fatores do meio ambiente tais como: temperatura, umidade relativa, o hospedeiro, tempo, e a composição do meio de cultura (ALVES, 1998; MOLINARIO, 2009). Uma das maneiras que torna possível se determinar uma espécie fúngica é verificar como se forma uma colônia, e

as características morfológicas presentes em determinados meios de cultura (MACORIS et al., 2012).

Os fungos constituem-se o segundo maior grupo de organismos vivos na Terra, perdendo apenas para os insetos, estima-se que existam aproximadamente 1,5 milhões de espécies de fungos, porém apenas cerca de 70 mil foram descritas e catalogadas, eles apresentam um papel fundamental não somente para a regulação ecológica do meio ambiente (RAVEN et al., 2007; LOPES, 2011).

O Reino Fungi de acordo com a biologia molecular se caracteriza como um grupo monofilético, organizado por cinco filos principais:

- Chytridiomycota - são principalmente aquáticos, possuem células flageladas;
- Zygomycota - são terrestres, possuem hifas cenocíticas, dessa maneira eles não são um grupo monofilético;
- Glomeromycota - são endomicorrízicos e simbioses com relações mutualísticas em mais de 90 % das plantas vasculares os quais não se conhece o tipo de reprodução sexual;
- Ascomycota - exibem hifas frequentemente septadas, e os ascos são os suportes para a base de suas reproduções;
- Basidiomycota - também apresentam hifas septadas e os basídios são os suportes para a base de suas reproduções (BRASIL, 2015).

A Tabela 1 apresenta a classificação e o número de espécies de cada um dos filos do Reino Fungi:

Tabela 1 - Classificação e o número de espécies dos filos do Reino Fungi.

Filo	Número de espécies
Ascomycota	64.200
Basidiomycota	32.000
Chytridiomycota	800
Glomeromycota	200
Zygomycota	1.000

Fonte: Kirk et al., (2008); Brasil, (2015).

Dependendo do local onde são encontrados e da associação com os seus hospedeiros, os fungos podem ser: endofíticos, fitopatogênicos, entomopatogênicos, rizosféricos, entre outros (TAKAHASHI; LUCAS, 2008).

Os fungos entomopatogênicos são microorganismos eucarióticos com núcleos que ficam espalhados no micélio, eles podem ser encontrados no filo deuteromycota, pois estes são uma fonte de rastreio para novos gêneros e espécies

de fungos (TAKAHASHI, et al., 1998; BORGES, 2007). Possuem uma característica peculiar, que é a de produzir metabólitos secundários, porém isso provoca a doença ou até mesmo a morte de seu hospedeiro, devido a liberação dessas substâncias (BORGES, 2007).

2.2 A UTILIZAÇÃO DE MEIOS DE CULTURA E OS MÉTODOS PARA O ISOLAMENTO DE FUNGOS.

Os fungos são capazes de formar colônias quando estão em meios de cultura, que podem ser leveduriformes ou filamentosas cada uma com suas características próprias, sendo as leveduriformes unicelulares e com aparência viscosa, e as filamentosas, são multicelulares pulverosas ou quebradiças (TRABULSI et al., 2002; ROMMINGER, 2008).

Devido à grande versatilidade de espécies de fungos entomopatogênicos de um mesmo gênero, alguns métodos de seleção devem ser seguidos, para se aproveitar o máximo possível de isolamento de substâncias provenientes destes microrganismos com a alta eficácia no controle, elevada qualidade de disseminação e firmeza a fatores adversos (GARCIA, 2004).

O grau de germinação dos isolados de fungos entomopatogênicos de uma mesma espécie pode variar de acordo com o meio de cultura em que o mesmo é colocado (FRANCISCO et al., 2003). Para uma eficiente produção dos fungos é necessário fazer uma boa escolha do meio de cultura, onde a sua constituição deve ser rica em carbono (C), nitrogênio (N) e sais minerais. Para uma grande capacidade produtiva de carbono, de maneira geral, utiliza-se os seguintes componentes: amido, glicose, sacarose, dextrose, e vários outros açúcares. Como fontes de nitrogênio empregam-se: proteínas, aminoácidos, além do ácido casamino, que é uma mistura de aminoácidos (SOPER & WARD, 1981; LEITE et al., 2003; LIMA, 2007).

Os fungos podem ser cultivados em dois meios de cultura distintos, sendo um destes artificial e o outro natural, quanto aos meios de cultura naturais existem três diferentes tipos: cultura líquida, cultura sólida e a cultura bifásica, nesta última há utilização dos dois meios de cultura para que possa ocorrer no meio líquido o crescimento vegetativo do fungo e posteriormente no meio sólido a esporulação (ALVES & PEREIRA, 1998 apud MACHADO, 2008). A tabela 2 mostra as

composições de alguns dos meios de cultura que são mais utilizados para a produção de fungos em larga escala:

Tabela 2 – Meios de cultura e suas composições.

Meio de cultura	Composição
Placa de ágar completo	KH_2PO_4 Na_2HPO_4 $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ KCl $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ Glicose Extratos de levedura Água destilada
Sabourad dextrose Agar	Dextrose Peptona Extrato de levedura Ágar
Caldo de ágar dextrose de batata	Sacarose Extrato de malte Bacto-peptona Extrato de levedura KH_2PO_4 Na_2HPO_4 $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ KCl CH_3OH CH_2Cl_2 EtOAc

Fonte: Fernandes, (2010).; Lobo et al., (2015).; Saepua, et al., (2015).

Os meios de cultura sólidos apresentam alguns benefícios em relação aos meios líquidos, devido ao fato de que no meio ambiente os fungos já realizam suas infecções em resíduos sólidos, entre outras vantagens estão a predisposição de serem utilizados em laboratórios, resistência as análises, além de oferecer durabilidade em meios secos (JACKSON, 1997).

Dependendo da quantidade de fungos que se deseja produzir, os materiais que compõem os meios de cultura podem variar quanto as suas massas, concentrações e volumes. Um exemplo de utilização destes meios de cultura foi a análise da patogenicidade do fungo *Bauveria Bassiana*, realizada por Lobo et al (2015), onde foi utilizado o meio de cultura CMA (ágar médio completo que é composto por: 0,4 g de KH_2PO_4 , 1,4 g de Na_2HPO_4 , 0,6 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 1,0 g de KCl , 0,7 g de $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 10 g de glicose, 5,0 g de extrato de levedura e 15

g de ágar em 1000 ml de água destilada), onde por meio deste foi possível um melhor entendimento sobre o processo de patogênese dos fungos nos insetos a partir da biossíntese dos metabólitos secundários isolados neste meio de cultura.

2.3. A IMPORTÂNCIA DOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS

Levando-se em conta o aspecto histórico em geral, os microrganismos vivos são vistos pela sociedade somente como causadores de várias patogenicidades, embora já exista uma notória evolução científica que tem demonstrado que esses seres são considerados uma rica fonte de substâncias químicas com diversas aplicações de interesse farmacêutico, econômico e industrial. Dentre os constituintes químicos presentes, encontram-se os metabólitos secundários que podem ser isolados desses microrganismos (CONTI et al., 2012).

Uma das classes mais importantes presentes entre esses microrganismos, são as dos fungos entomopatogênicos, que tem possibilitado a criação de produtos naturais, sendo, portanto, uma fonte propulsora na produção de fármacos, com atividade antibacteriana, antifúngica, antiviral, imunossupressor, antitumoral, inibição enzimática, agentes estimulantes de mobilidade gástrica, hipocolesterolêmica, inseticida, herbicida, antiparasitária, além de diversas outras aplicações, desta maneira, percebe-se a importância e conseqüentemente a abertura de novos caminhos para a prospecção e o isolamento de mais substâncias provenientes destes fungos (DEMAIN; SANCHEZ, 2009).

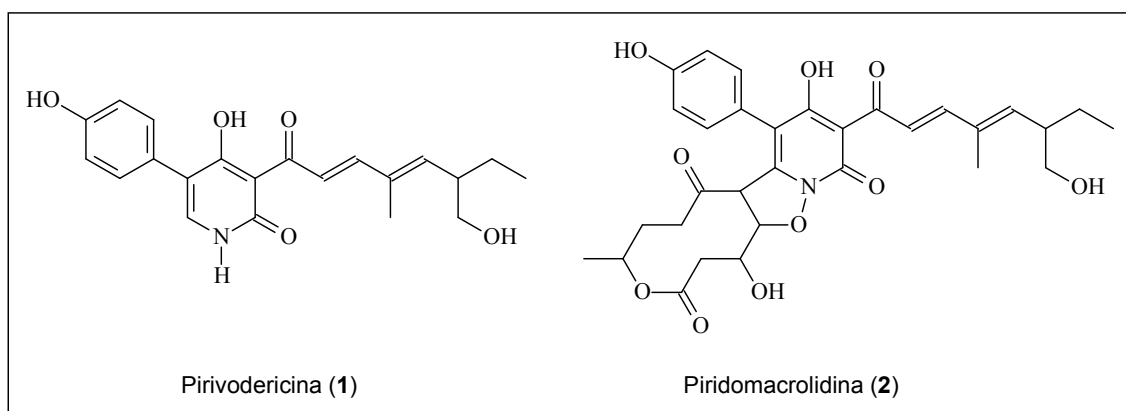
Dentre as espécies dos fungos entomopatogênicos comumente encontradas estão o *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e várias espécies de fungos do gênero *Paecilomyces*, sendo os dois primeiros, mais estudados no Brasil e em outros países devido aos seus inúmeros metabólitos já isolados, com aplicações em diversos meios e também por conta da tendência de produção destas substâncias em diferentes meios de cultivo (FERNANDES, 2010).

Em meados do século XIV o ramo industrial da produção de seda estava altamente comprometido na Europa e na Ásia por uma situação desconhecida chamada muscardina que ocasionava larvas de bicho da seda que depois de algum tempo deixavam-na cobertas de um material branco (AINSWORTH, 1976). O pesquisador Agostino Bassi, em 1835, desvendou o mistério do problema provocado no bicho da seda pela muscardina branca, no qual se tratava de uma doença, e o

principal agente causador desta patogenicidade era o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, este foi o primeiro estudo que relatou uma doença provocada por um fungo em seres vivos (PANACCIONE; ANNIS, 2001).

O aparecimento dos fungos da espécie *Beauveria bassiana* foram registrados em vários países do mundo, ocorrendo principalmente em insetos lepidópteros, coleópteros, hemípteros, dípteros, himenópteros e ortópteros. Em 1970, este fungo ficou mundialmente conhecido pela sua grande eficiência e aplicação em ampla escala no controle do besouro colorado, *Leptinotarsa decimlineata*, na ex-União Soviética, utilizando-se um produto denominado boverin (GASSEN 2006 & POGETTO 2009). Além disso, em 1998 foi descrita a produção de dois alcaloides por este fungo, a piridovericina (1) e a piridomacrolidina (2) (FIGURA 3), tendo estes em comum o esqueleto de 4-hidroxi-5-(p-hidroxifenil)-piridona (TAKAHASHI et al.,1998). Também foi relatado que estes metabólitos apresentam um grande potencial na prevenção de doenças neurodegenerativas como alzheimer e parkison (PATOCKA, 2016).

Figura 2 – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários piridovericina e piridomacrolidina.



Fonte: Takahashi et al., (1998).

Em 1879 Metchnikoff fez o isolamento do fungo *Metarhizium anisopliae* de um inseto contaminado e propôs que o mesmo apresentava uma grande eficácia no combate a pragas de insetos, até meados de 2000 este fungo era o responsável pelo controle biológico de baratas e foi estudada a sua aplicação para o combate de pragas agrícolas (CARLTON, 1996).

Os fungos oferecem algumas vantagens por sua grande eficiência na sua reprodução e um tempo de vida reduzido, dentre estes se destaca o fungo do gênero *Lecanicillium lecanii*, um fungo oportunista pela sua capacidade de hospedar

outros organismos vivos além dos insetos, como ácaros, fungos nematoides e outras espécies de fungos fitopatogênicos (HALL, 1981; MILNER, 1997; ZARE & GAMS, 2001). Sua atividade patogênica foi relatada pela primeira vez no ano de 1861, quando o mesmo foi encontrado em artrópodes da espécie *Saissetia coffeae* (WENZEL, 2005).

Outros fungos entomopatogênicos de grande importância são os do gênero *Paecilomyces*, observados pela primeira vez em 1907, apresentando grande importância, no que diz respeito à constituição de metabólitos secundários produzidos pelo mesmo, dentre os quais estão as leucinotastinas A (MORI et al, 1982), D (ROSSI et al, 1987), H e K (RADICS et al, 1987) antibióticos peptídicos; poligalactosaminas anti-cancerígenas (ISHITANI et al, 1988); saintopina, um antibiótico de clivagem do DNA (FUJII et al, 1994); paeciloquinonas A, B, C, D e E, inibidores de tirosino quinase (PETERSEN et al, 1995); kurasoinas A e B, inibidores farnesiltransferase (UCHIDA et al, 1996) e lipohexin, um inibidor da prolil endipeptidase (HEINZE et al, 1997), além disto outros metabólitos desta espécie de fungo que ficaram conhecidos como paecilomycinas A, B e C, foram isoladas mostrando serem grande propulsores no combate de doenças neurodegenerativas (KIKUCHI et al., 2004; LIMA, 2005; LOPES 2007).

Em 1994, dos vinte medicamentos mais vendidos no mundo, seis eram de natureza fúngica, movimentando um mercado gigantesco de cerca de 6,7 bilhões de dólares. Além disso, os fungos também são utilizados na fabricação de produtos agroquímicos, menos prejudiciais a saúde das pessoas, favorecendo desta forma os interesses econômicos de muitos países tanto no setor farmacêutico quanto industrial, sendo estes umas das principais bases econômicas para a sociedade atual (PINTO et al., 2002).

2.4 CARACTERÍSTICAS DOS FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS

Os fungos entomopatogênicos são microrganismos causadores de várias patogenicidades, podendo atacar insetos em variados ecossistemas, provocando epizootias. A maioria desses fungos vive em simbiose com os seus hospedeiros, sendo responsáveis por cerca de 80% das doenças em insetos. Esses fungos apresentam aproximadamente 90 gêneros e 700 espécies (ALVES 1998; SHAH; PELL, 2003 & POGETTO, 2009). Essa classe de fungos possui uma peculiaridade

sobre as demais, pois não precisam ser digeridos pelo o seu hospedeiro, nesse caso os insetos (FERNANDES, 2010).

Os insetos possuem uma espécie de proteção chamada cutícula que age contra a ação de muitos microrganismos entomopatogênicos, sendo constituída por lipídeos, aminoácidos e amino-açúcares, esses constituintes são fontes favoráveis de nutrientes para o desenvolvimento do fungo (CRUZ 2016).

O processo de contaminação acontece quando ocorre à penetração e germinação dos esporos do fungo na cutícula do inseto, neste estágio ocorre uma forma de hidrólise enzimática, onde o fungo produz uma grande quantidade de polímeros que formam enzimas capazes de transformar partes do corpo do inseto infectado em substâncias que favorecem o seu desenvolvimento, esta produção de enzimas é uma condição que favorece a virulência do fungo entomopatogênico (ALVES 1998; FERNANDES et al., 2012; CRUZ 2016).

Os fungos invadem os insetos através do tegumento, com isso há uma grande propagação na hemocele ocasionada pela liberação de enzimas conhecidas como endoproteases, aminoproteases, lipases, esterases e quitinases, que são liberadas externamente pela cutícula facilitando a infecção, produzindo toxinas, provocando a morte do animal, que leva em torno de quatro a cinco dias (OLIVEIRA, 2008; FERNANDES, 2010). A Figura 3 mostra alguns exemplos de insetos infectados por fungos.

Figura 3 – Insetos infectados por fungos entomopatogênicos.



Fonte: Google Imagens, (2017).

Após todo o processo de absorção de nutrientes e das demais substâncias, as hifas saem do corpo do inseto e originam o micélio que recobre toda a região do tegumento, originando uma mumificação, dependendo das condições ambientais

como, por exemplo, o vento, pode haver a formação de conídios, sendo estes os principais agentes de disseminação de doenças (ALVES, 1998; OLIVEIRA, 2008).

Existem alguns indícios que mostram quando os insetos são infectados por fungos, por exemplo, manchas escuras pelo corpo, perda do ato de se alimentar, assim como a capacidade de locomoção dos insetos é prejudicada. De acordo com a espécie do fungo, o inseto depois de morto adquire as mesmas características do fungo parasita, como por exemplo, a sua coloração, esse processo acontece por conta do desenvolvimento do micélio, em consequência da esporulação (LIMA, 2007).

O tempo em que ocorre as diferentes fases do processo de interação entre o fungo e o seu hospedeiro, depende muito das espécies dos insetos que serão atacadas (fatores bióticos) e das variações climáticas (fatores abióticos), desse modo, para que essas relações simbióticas entre fungo-inseto ocorram de maneira favorável alguns fatores são importantes como: temperatura, luz, umidade, radiação solar e condições nutricionais (ALMEIDA & BATISTA, 2006; BORGES, 2007; LIMA 2007). Dentre esses fatores, a radiação proveniente da luz solar, pode trazer algumas vantagens, desvantagens ou até mesmo não apresentar nenhum efeito sobre os fungos. O efeito desta radiação vai ocorrer principalmente em consequência da sua intensidade e tempo de exposição (ALVES, 1982; VALLE, 1984; LIMA, 2007). Temperaturas que ficam em torno de 25 °C são as que mais propiciam a expansão e a conidiogênese dos fungos, há também os fungos que necessitam de temperaturas mais amenas para esse processo de desenvolvimento, é o caso dos *Entomophthorales*, que utilizam temperaturas mais baixas em torno de 20 °C (LIMA, 2007).

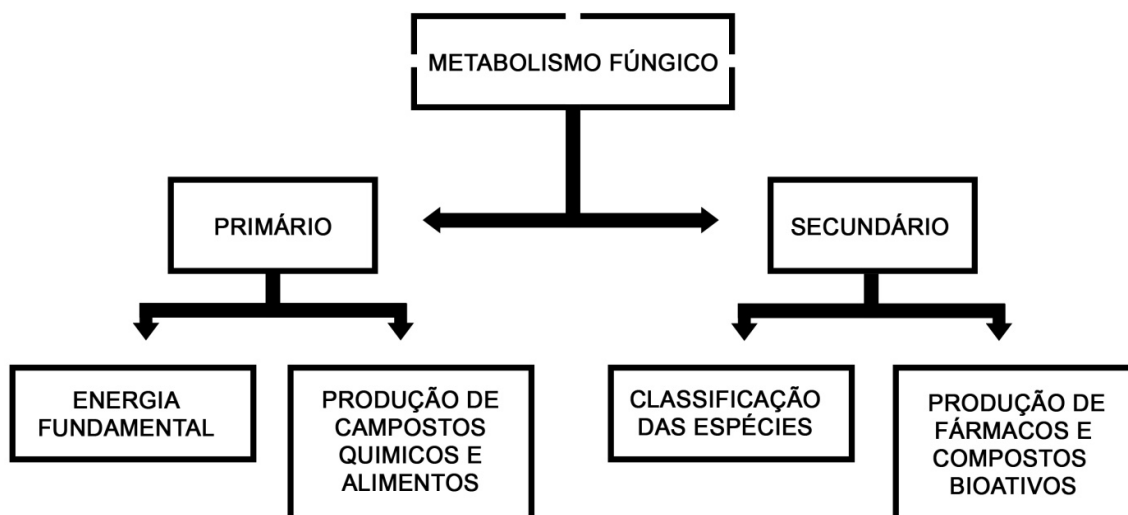
2.5 OS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Os metabólitos secundários são micromoléculas com estruturas complexas provenientes de rotas biossintéticas, que são produzidos pelas plantas, fungos e animais (BRITO, 2017).

São originados a partir de uma ampla distribuição de metabólitos primários, sendo não essenciais ao desenvolvimento e reprodução do organismo, apresentado algumas peculiaridades, como, classificação taxonômica restrita (JAY, 2005;

KELLER et al., 2005; MARTÍN et al., 2005; NIGAM, 2009 apud LOPES, 2011). A Figura 4 ilustra as duas formas de metabolismo fúngico e suas aplicações.

Figura 4 - Fluxograma de representação do metabolismo fúngico.



Fonte: Adaptado de Jewett, et al., (2007).

Os metabólitos secundários de origem fúngica possuem características peculiares, visto que nem todos os microorganismos os produzem; são produzidos no final do desenvolvimento fúngico, são compostos conhecidos como não fundamentais para o desenvolvimento e reprodução do organismo; podem ser produzidos em larga escala, utilizando várias técnicas especializadas e sofisticadas (NIGAM, 2009).

Um dos métodos utilizados para identificar a diversidade dos metabólitos secundários fúngicos, é a quimiotaxonomia, porém nem todos esses metabólitos são utilizados para fins quimiotaxonomicos ou de classificação, mesmo que estes sejam de interesse para o fungo, pois os aspectos importantes de um fungo são descritos por meio dos metabólitos secundários distintos encontrados nestes microorganismos, já os metabólitos primários não apresentam essa diferenciação, pois todos são compostos comuns a todos os fungos (FRISVALD et al., 2007).

O processo de biossíntese de metabólitos secundários dos fungos não apresenta semelhança com o das plantas, desse modo pode ocorrer a produção de um mesmo metabólito secundário para várias espécies de fungos por conta das

relações filogenéticas e por esses seres vivos possuírem uma vantagem na seleção desses compostos que apresentam bioatividades (FRISVALD et al., 2007).

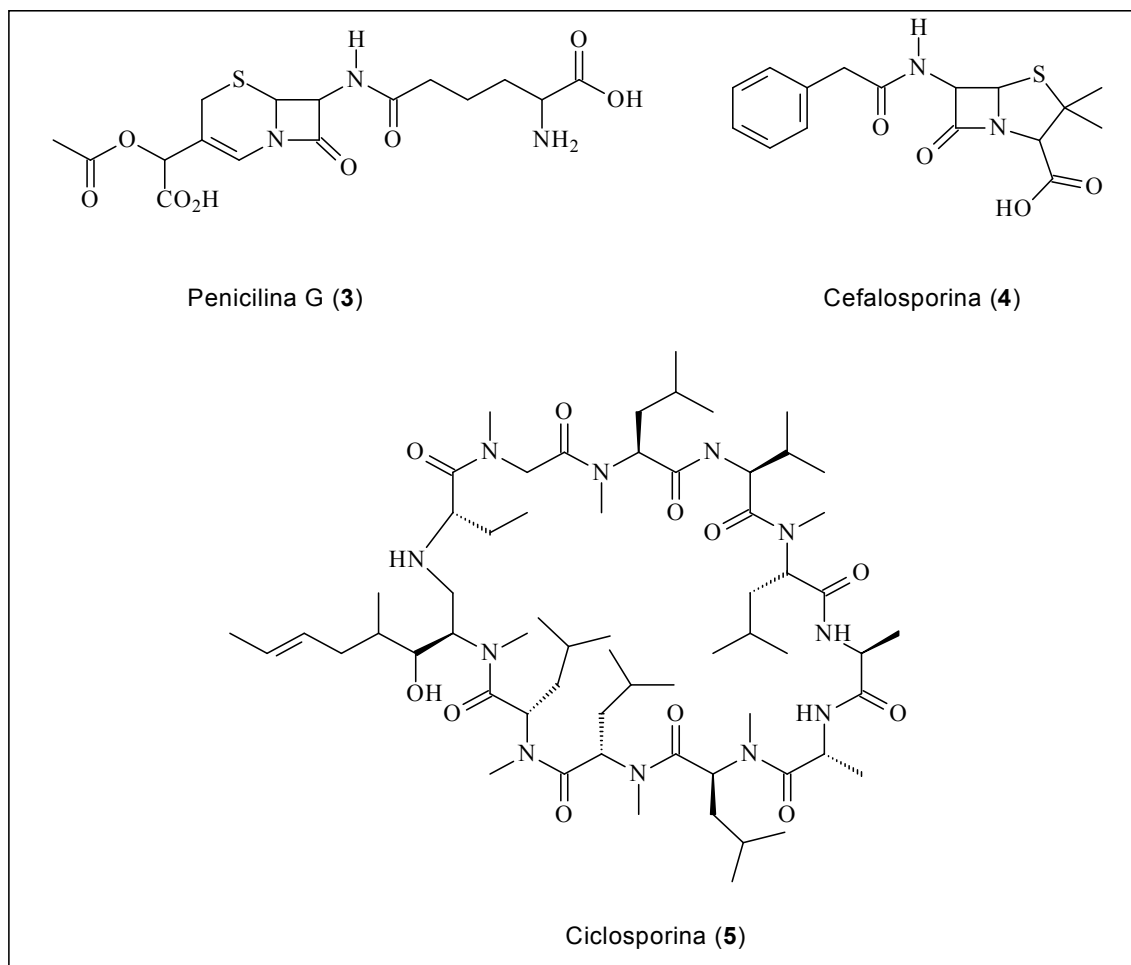
Os fungos possuem uma variedade de espécies amplamente distribuídas e que apresentam um potencial significativo na produção de moléculas bioativas como alcalóides, benzoquinonas, flavonóides, fenóis, esteróides, terpenoides, tetralonas e xantonas (BHIMBA; JOEL, 2013).

Das diversas moléculas bioativas, os fungos produzem as micotoxinas, que são originadas principalmente pelos filamentosos, tendo cinco gêneros (*Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Claviceps* e *Alternaria*) como produtores principais destas substâncias, dentre suas características fundamentais as micotoxinas possuem: baixo peso molecular, e atividades farmacológicas semelhantes as de outros metabólitos, no que diz respeito ao efeito antibiótico (NIGAM, 2009).

Na perspectiva farmacológica, a síntese de novos metabólitos tem obtido um crescimento notável em relação aqueles originados a partir de fungos, plantas e bactérias, principalmente em relação ao combate ao câncer uma vez que algumas substâncias possuem propriedades quimiopreventivas, neuroprotetoras antimicrobianas e antiinflamatórias, uma das classes de grande importância inclui os compostos oxiprenilados e seus derivados, que nos últimos anos tiveram suas propriedades químicas e farmacológicas analisadas, nesta classe estão incluindo ácidos benzóicos, álcoois, aldeídos aromáticos, chalconas, antraquinonas e p-naftoquinonas (EPIFANO et al., 2017).

De uma maneira geral, os metabólitos de origem fúngica fornecem benefícios ou malefícios para os demais seres vivos produzindo toxinas potentes como os alcalóides, aflatoxinas e amatoxinas, trazendo alguns efeitos patogênicos para os seres humanos, porém, nos últimos tempos, muitos fármacos de importância crucial, foram desenvolvidos a partir de produtos naturais isolados de fungos, dentre as quais, por exemplo, estão a Penicilina G (3), Cefalosporina (4) e Ciclosporina (5) (FIGURA 5) (BOECKER et al., 2016).

Figura 5 – Formula estrutural da Penicilina G, Cefalosporina e Ciclosporina.



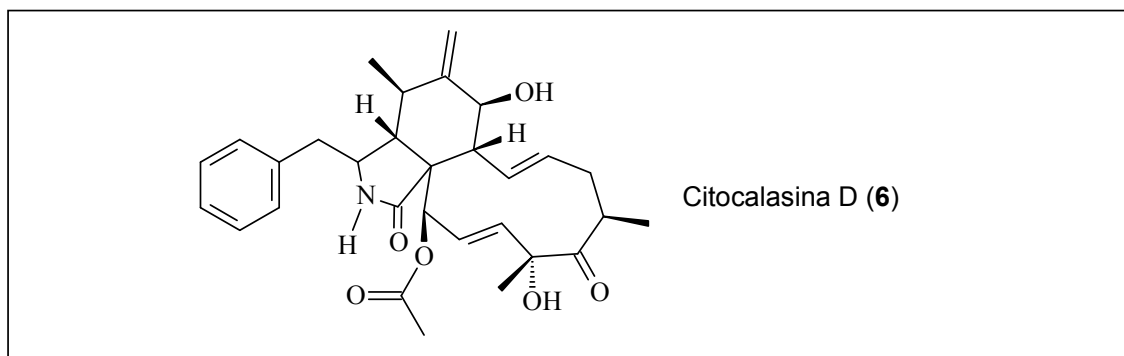
Fonte: Bolzani et al., (2002); Takahashi; Lucas, (2008).

Os metabólitos secundários são uma ferramenta muito importante para quimiotaxonomia dos fungos, apesar de que muitos desses metabólitos são comuns em diferentes espécies de fungos, um exemplo é a citocalasina D (6) (Figura 6) que é produzida por diferentes fungos como: *Coriolus vernicipes* (Basidiomiceto), *Zygosporium masonii* (Zigomiceto), *Metarrhizium anisopliae*, *Engleromyces goetzii*, e *Hypoxylon terricola* (Ascomiceto) (FRISVALD et al., 2007).

A produção de metabólitos secundários traz alguns benefícios para o fungo quando este entra com competição com os demais microrganismos, isso explica o fato dessas substâncias apresentarem efeitos tóxicos (KHALDI, et al, 2010). Os fungos entomopatogênicos produzem uma quantidade relevante de moléculas biologicamente ativas, dentre as quais encontram-se, as destruxinas, citocalasinas, viridoxinas, beauvericinas, bassianolides, ácidos oxálicos, efraeptinas,

ciclosporinas, leucinotastinas, hirsutelininas, formalactona e cordycepinas (ROBERT & KRASNOFF, 1998).

Figura 6 – Fórmula estrutural da citocalasina D.



Fonte: Adaptado de Zarnadi, et al., (2009).

O perfil do metabolismo secundário dos fungos é uma ferramenta muito importante no que diz respeito a classificação/identificação qualitativas e quantitativas das espécies ou gêneros de fungos (FRISVALD et al., 2007). O processo de identificação dos metabólitos isolados dos fungos inclui a caracterização dessas moléculas bioativas levando à produção do fármaco e outros produtos de grande importância para as necessidades da sociedade como um todo (BRITO, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar levantamento bibliográfico dos metabólitos secundários suas aplicações e atividades farmacológicas relacionadas.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ✓ Realizar pesquisa bibliográfica nos bancos de dados da *Web of Science*, e *Science Direct*, sobre os metabólitos secundários dos fungos entomopatogênicos;
- ✓ Relatar as atividades farmacológicas, e demais aplicações dos metabólitos secundários produzidos pelos fungos entomopatogênicos;
- ✓ Relacionar as atividades farmacológicas à composição química dos metabólitos secundários encontrados nos fungos entomopatogênicos.

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE PESQUISA

Para a confecção deste trabalho foi realizada uma pesquisa exploratória de caráter descritivo. Na perspectiva de Santos (2017), uma pesquisa exploratória possibilita o conhecimento mais amplo sobre determinado assunto. Sendo esta de finalidade descritiva proporciona a investigação de um fato e/ou fenômeno estudado, bem como sua observação e anotação sem mudança dos resultados encontrados (CERVO; BERVIAN, DA SILVA, 2007). Desta forma, descreve as características do fato pesquisado (GIL, 2002).

4.2 PROCEDIMENTO DA PESQUISA

4.2.1 Levantamento bibliográfico

Os dados para o levantamento bibliográfico foram obtidos por meio das plataformas de periódicos *Web of Science* e *Science Direct*, que são bases onde se encontram trabalhos internacionais, nacionais, que se concentram desde resumos, referências, artigos científicos, além de dissertações e teses que se encontram em bases de universidades brasileiras, onde estão relacionadas todas as áreas do conhecimento.

Foram analisados todos os trabalhos referentes às diferentes espécies e gêneros de fungos entomopatogênicos entre os anos de 2007-2017. Foram utilizadas as palavras-chave *Entomopathogenic*, *Fungi*, *Metabolites* e *Secondary*, onde se buscou a composição química de todos os metabólitos secundários, atividades farmacológicas e os meios em que são produzidos.

4.2.2 Análise dos resultados

Foram verificados os resumos de todas as publicações onde se analisou se houve ou não a descrição de metabólitos secundários isolados de fungos entomopatogênicos, logo em seguida essas informações foram descritas destacando-se os pontos principais de cada um destes trabalhos no que diz respeito

as atividades farmacológicas de cada um desses metabólitos, bem como outras aplicações, logo depois de descritas, todas as estruturas dos metabólitos foram desenhados com o auxílio do programa Chemwindow 6.0.

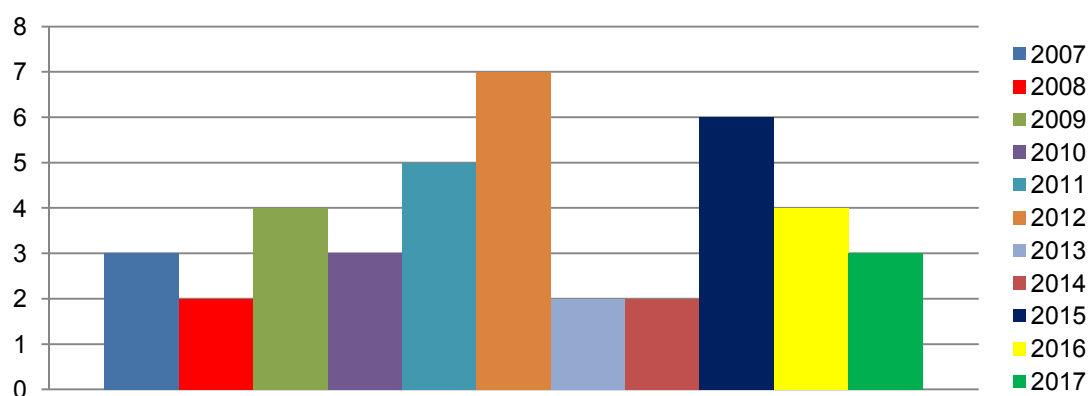
As informações coletadas a respeito de todos os metabólitos foram organizadas em gráficos e tabelas, onde nestes estão contidos todos os metabólitos secundários de acordo com a espécie e gênero do fungo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS COM APLICAÇÃO FARMACOLÓGICA, INDÚSTRIAL E AGRÍCOLA.

Após a realização da pesquisa em ambos bancos de dados *Web of Science* e *Science Direct*, verificou-se um total de 220 trabalhos relacionados aos fungos entomopatogênicos entre os anos de 2007-2017, organizados em diversas linhas de pesquisa com uma variedade de aplicações, bem como as informações sobre as características ecológicas e morfológicas. Da quantidade total foram verificados que 41 artigos estavam relacionados ao isolamento de metabólitos secundários provenientes dos fungos entomopatogênicos com atividades farmacológicas importantes para o combate de várias patogenidades, e outras aplicações com na indústria agrícolas. O gráfico 01, apresenta a distribuição destes trabalhos segundo o levantamento realizado entre os anos de 2007-2017.

Gráfico 01- Trabalhos publicados sobre metabólitos secundários de fungos entomopatogênicos.



Fonte: Autoria Própria (2017).

De acordo com os dados levantados notou-se que houve um crescente número de publicações, sobre metabólitos secundários de fungos entomopatogênicos com aplicação em farmacologia, indústria e agricultura, entre os anos de 2010 e 2012, tendo então um pequeno decréscimo nos dois anos subsequentes. Contudo, nos anos de 2015, 2016 e 2017, verificou-se um pequeno decréscimo destas publicações. Outro aspecto de relevância observado foi que a maioria dos trabalhos publicados neste período, concentrou-se nas áreas de pesquisa da farmacologia (20 artigos) e da agricultura (9 artigos), demonstra que

existe um interesse no desenvolvimento de novos medicamentos e novos produtos no combate de pragas agrícolas, uma vez que esses microorganismos são os responsáveis pela morte dos insetos que constituem algumas destas pragas. A tabela 3 mostra a relação do número de trabalhos publicados por áreas de aplicação e as correspondentes espécies de fungos.

Tabela 3 - Relação do número de trabalhos publicados por áreas de aplicação e as correspondentes espécies de fungos entre os anos de 2007-2017.

Área de Aplicação	Número de trabalhos publicados	Espécies dos fungos
Farmacologia	20	<i>Lecanicillium antillanum</i> , <i>Cordyceps Annullata</i> , <i>Lecanicillium</i> sp., <i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Metarhizium flavoviride</i> , <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Ophiocordyceps coccidiicola</i> , <i>Torrubiella luteorostrata</i> , <i>Paraconiothyrium hawaiiense</i> , <i>Conoideocrella luteorostrata</i> Zimm, <i>Aschersonia luteola</i> , <i>Isaria tenuipes</i> , <i>Aschersonia paraphysata</i> , <i>Aschersonia coffeae</i> .
Indústria	4	<i>Metarhizium robertissi</i> , <i>Beauveria bassiana</i> .
Isolamento de metabólitos secundários	8	<i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Cordyceps indogotica</i> , <i>Isaria tenuipes</i> , <i>Aschersonia calendullina</i> , <i>Torrubiella luteorostrata</i> .
Agricultura	9	<i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> .
Total	41	23

Fonte: Autoria Própria, (2017).

De acordo com o que foi exposto, a seguir serão descritos os artigos que foram encontrados na pesquisa entre os anos de 2007 à 2017, nos quais serão retratadas a composição química dos metabólitos secundários dos fungos entomopatogênicos, atividades farmacológicas, e outras aplicações.

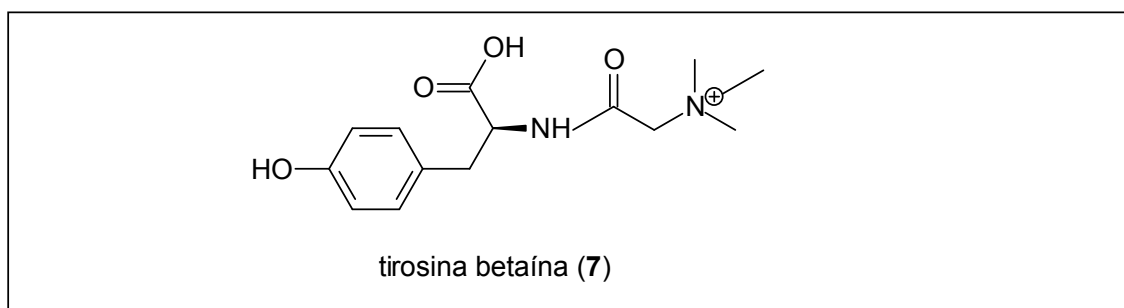
5.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO *Metarhizium*.

Os fungos da espécie *Metarhizium anisopliae* são classificados como deuteromicetos e são bastante conhecidos por produzirem uma grande variedade de metabólitos secundários, além disso, eles são uma potencial fonte de inseticidas que são utilizados no controle de pragas agrícolas. Por sua ampla distribuição esses fungos são os mais explorados na busca por moléculas bioativas (CAROLLO et al., 2010).

Os metabólitos da espécie *Metarhizium anisopliae*, são altamente tóxicos para insetos, bactérias, vírus e até mesmo outros fungos, no entanto, a maioria dessas substâncias isoladas pela fermentação de extratos do micélio (CAROLLO et al., 2010).

Estudos realizados com os conídios de *Metarhizium anisopliae* levaram ao isolamento de um metabólito secundário que foi identificado como tirosina betaína (7) (FIGURA 7), que foi cultivado em meios de cultura médios PDA (caldo de ágar de dextrose de batata) e PDAY (caldo de ágar de dextrose de batata com extrato de levedura) (CAROLLO et al., 2010).

Figura 7 – Estrutura da tirosina betaína isolada a partir do fungo *Metarhizium anisopliae*.

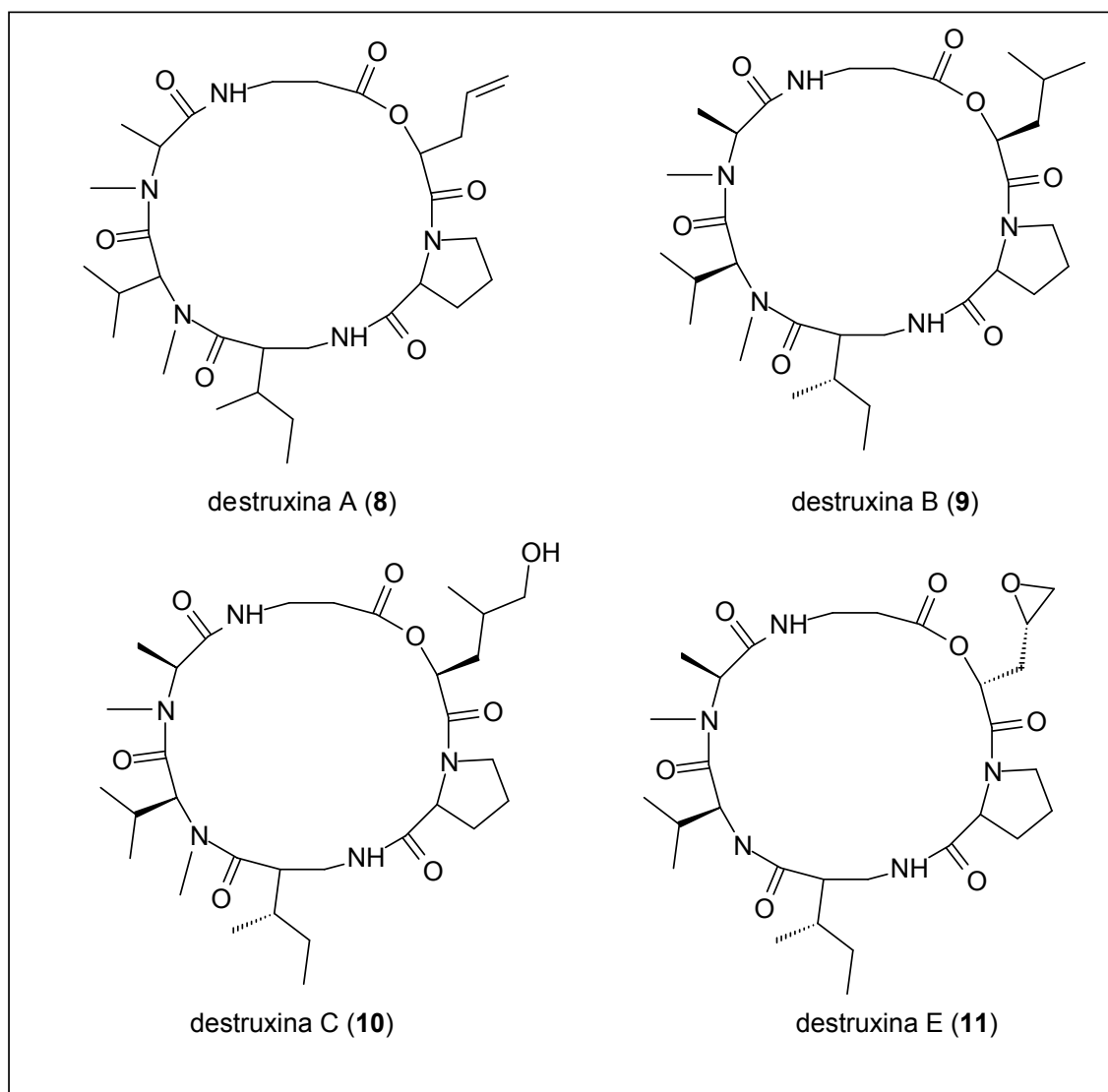


Fonte: Carollo et al., (2010).

Para a tirosina betaína ainda não foi verificada atividade farmacológica ou outra possível aplicação (CAROLLO et al., 2010).

Em pesquisas realizadas por Ravidran et al., (2016) foram analisados os efeitos patogênicos de quatro destruxinas (A, B, C e E) (**8**, **9**, **10** e **11**) isoladas do micélio de *Metarhizium anisopliae*, em larvas do mosquito *Aedes aegypti*. A figura 8 ilustra estas moléculas onde nota-se que há uma diferença pequena as formas estruturais, mas que são importantes para as suas atividades.

Figura 8 – Estrutura das destruxinas isoladas do fungo *Metarhizium anisopliae*.



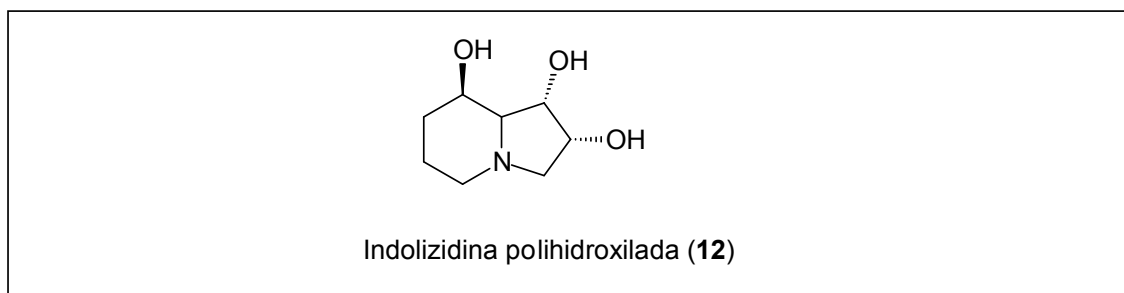
Fonte: PubChem.com, (2018)

De acordo com os resultados obtidos os autores observaram que após três dias, as destruxinas A (**8**) e a destruxina E (**11**) apresentaram uma maior taxa de mortalidade sobre as larvas se comparada as outras duas, isso mostra que as destruxinas provenientes de fungos entomopatogênicos são uma fonte alternativa

para a criação de novos produtos para o combate de pragas, desse modo as destruxinas A (**8**) e E (**11**) apresentam atividades tóxicas e inseticidas elevadas, fato que é justificado pelas suas diferentes composições em suas cadeias químicas laterais (RAVIDRAN et al., 2016). No entanto, segundo Ravidran et al (2016) a produção destes metabólitos depende do meio de cultura utilizado e de fatores ambientais, como diferenças de temperatura, incidência da luz, por exemplo.

Pesquisas realizadas com as cepas do fungo *Metarhizium spp* mostraram o isolamento de um novo alcaloide anticancerígeno: a indolizidina polihidroxilada (**12**) (FIGURA 9). Este microrganismo foi cultivado em três meios de cultura distintos (meio com extrato de farinha de aveia, glicose e DL- Lisina), onde se observou a produção deste mesmo metabólito secundário (JUSTO et al., 2007).

Figura 9 – Fórmula estrutural do alcalóide proveniente das cepas do fungo *Metarhizium spp*.

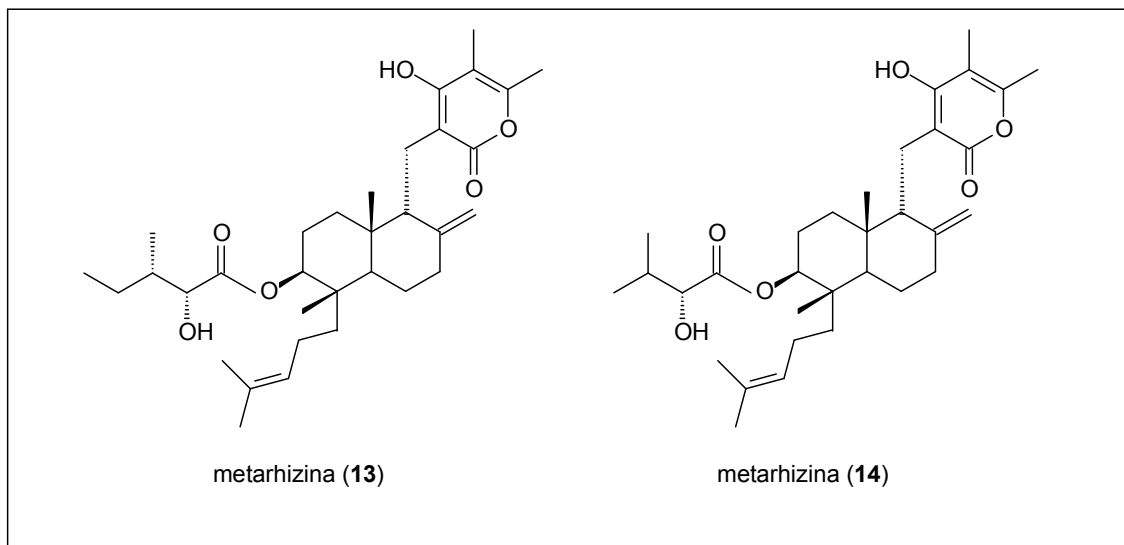


Fonte: Justo et al., (2007).

No entanto a obtenção deste metabólito e seus análogos por via sintética representa um alto custo que é explicado pelo fato desta molécula conter quatro centros quirais, a mudança da estereoquímica de um destes centros quirais muda as suas propriedades farmacológicas, o que requer a análise de cada um desses enantiômeros, além disso, são necessários pouco mais de vinte reações para a sua síntese completa (NEMR, 2000; JUSTO et al., 2007).

Pesquisas realizadas por Kikuchi et al., (2008) levaram ao isolamento de dois novos diterpenos de pironas (metarhizinas A-**13** e B-**14**) a partir dos extratos metanólicos do meio de cultura Czapek-Dox, do fungo da espécie *Metarhizium flavoviride*. A figura 10 mostra as fórmulas estruturais químicas desses metabólitos secundários.

Figura 10 – Metabólitos secundários isolados do fungo *Metarhizium flavoviride*.



Fonte: Kikuchi et al., (2008).

Quatro diferentes bioensaios foram realizados com estes metabólitos frente as linhagens celulares cancerígenas K562, A549 e HCT116 e THP-1, em que foi verificado que essas duas metarhizinas inibiram com alta eficiência a proliferação das linhagens celulares K562, A549 e HCT116, porém contra a linha celular THP-1 os compostos se mostraram ativamente fracos. A tabela 4 trás as respectivas taxas de valores de IC₅₀ para cada um destes compostos.

Tabela 4 – Valores de IC₅₀ para os compostos metarhizinas A e B, frente a quatro linhagens celulares cancerígenas.

Composto	Valores de IC ₅₀ em μM			
	K562	THP-1	A549	HCT116
Metarhizium A	0,043	4,4	0,039	0,031
Metarhizium B	0,086	8,2	0,093	0,067

Fonte: Kikuchi et al., (2008).

As atividades apresentadas pelas metarhizinas A (13) e B (14) sugerem que estes compostos podem ser utilizados para síntese de novos fármacos anticancerígenos, uma vez que estas moléculas se mostraram potentes agentes antiproliferativos (KIKUCHI et al., 2008).

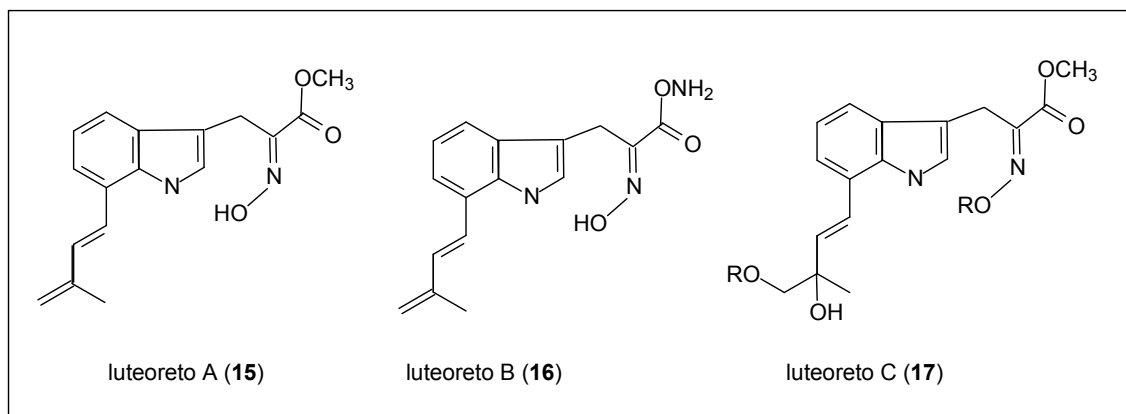
Outros estudos realizados com o fungo da espécie *Metarhizium robertsii*, demonstraram que um isolado a partir do mesmo foi capaz de realizar a biodegradação de poluentes dos rios o que mostra a eficiência e aplicabilidade destes microrganismos (ROSALSKA et al., 2015).

5.3 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO *Torrubiella*.

Os fungos do gênero *Torrubiella* são patógenos de artrópodes, que atacam principalmente aranhas e pequenos insetos (JOHNSON et al., 2009).

Os metabólitos secundários dos fungos entomopatogênicos embora apresentem vários isolados, possuem compostos ficam ocultos, ou seja, não são codificados, pelas rotas biossintéticas destes fungos, é o que acontece, por exemplo, com o fungo da espécie *Torrubiella luteorostrata*, que com a utilização do ácido suberoyl bis-hidroxâmico (SBHA), como inibidor químico de desacetilases, levou a obtenção de três novos compostos derivados do triptofano penilados (FIGURA 11) que ficaram caracterizados como Luteoretos A-C (**15-17**) (ASAI et al., 2012).

Figura 11 – Estrutura dos metabólitos isolados do fungo *Torrubiella Luteorostrata*.

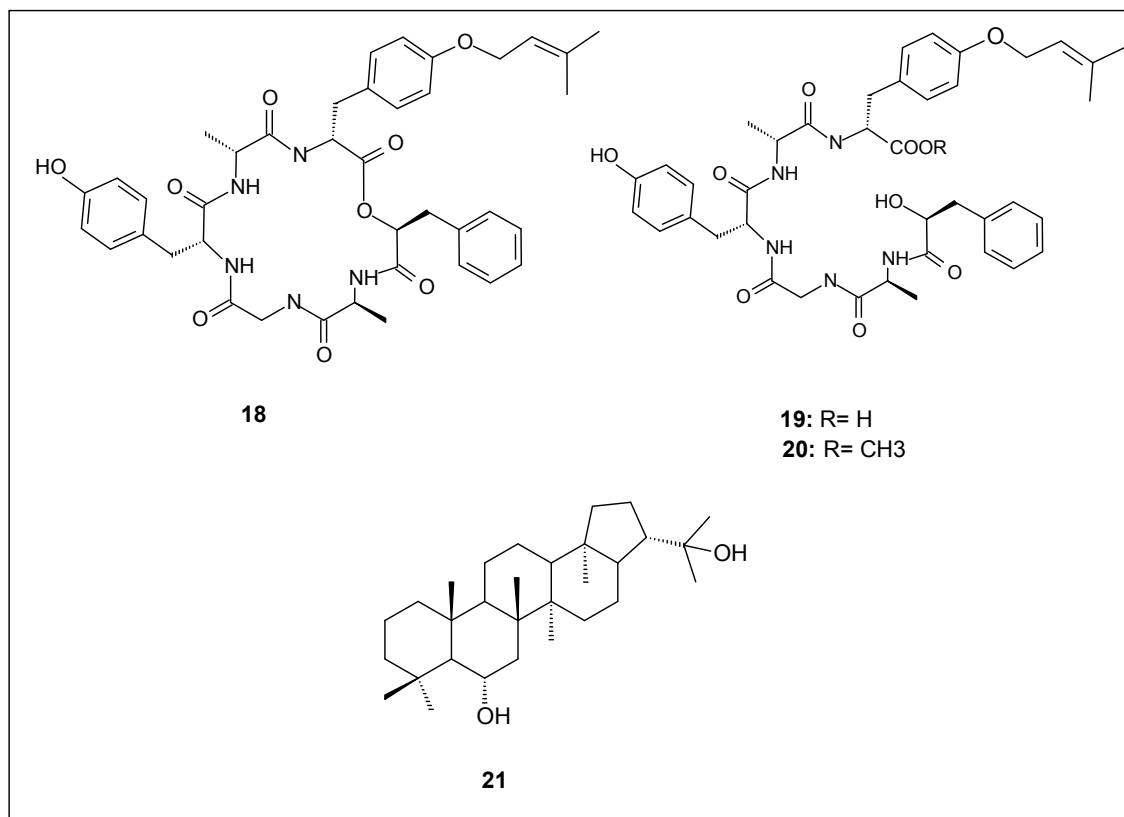


Fonte: Asai, et al., (2011).

A partir das análises estruturais destas moléculas foi verificado o aparecimento de um grupo inédito em produtos naturais, conhecido como E-oxima, as atividades farmacológicas ou possíveis outras aplicações desses compostos ainda não foram descritas (ASAI et al., 2011).

A partir do meio de cultura PDB Isaka et al., (2007) relataram o isolamento de quatro novos compostos (FIGURA 12A) para esta mesma espécie de fungo, que foi encontrado em um hospedeiro do grupo homóptera, onde nestes novos isolados estavam contidos um ciclohexadepsipeptídeo (**18**), um paecilodepsipeptídeo A (**19**), paecilodepsipeptídeo B e C (**20**), e um triterpeno hopano zeorina (**21**), já retratado na literatura.

Figura 12A – Estruturas dos metabólitos secundários isolados do fungo *Torrubiella luteorostrata*.

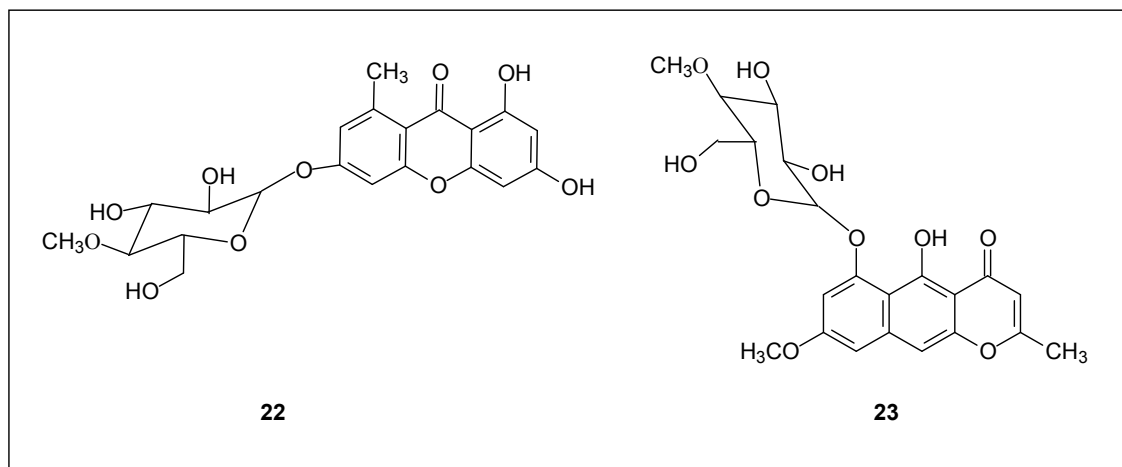


Fonte: Isaka et al., (2007).

Além disso, ainda deste mesmo fungo foram isolados outros compostos também inéditos (FIGURA 13B), caracterizados como glicósidos, um de xantona (**22**) e outro de naftopirona (**23**) (ISAKA et al., 2007).

Os bioassaios realizados com estes metabólitos mostraram que os compostos **18**, **19** e **20** apresentam potentes atividades antimalariais e antitumorais, por conta de suas mesmas bases esqueléticas em suas estruturas, e o paecilodepsipeptídeo A (**20**), possui atividade antipalúdica mais eficiente que os demais metabólitos (ISAKA, et al., 2007).

Figura 12B – Fórmula estrutural do metabólitos secundários isolados dos fungo *Torrubiella luteorostrata*.



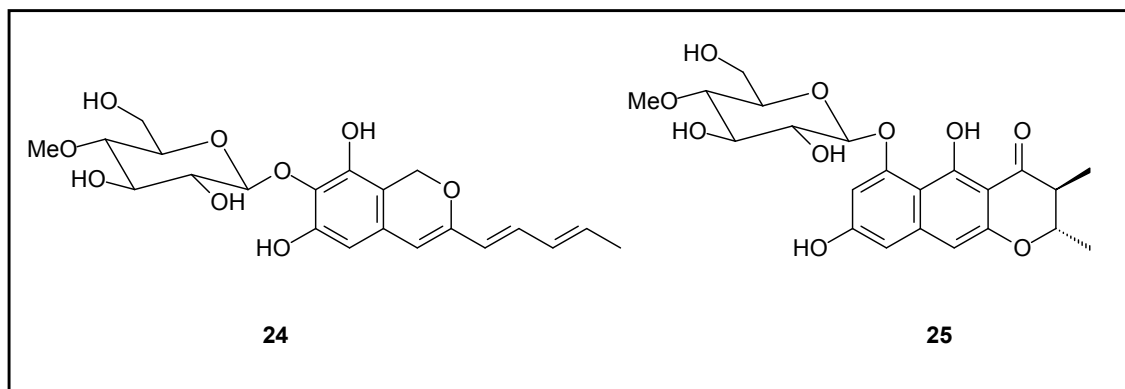
Fonte: Isaka et al., (2007).

5.4 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO *Cordyceps*.

Os fungos do gênero *Cordyceps* pertencem ao filo Ascomycota e parasitam artrópodes, são os principais patógenos de várias classes de insetos, dentre as quais estão hymenoptera, hemíptera, díptera, lepidóptera e coleóptera, uma de suas peculiaridades é que estes fungos utilizam apenas um hospedeiro não havendo troca dos mesmos durante o seu ciclo de vida além de produzirem moléculas bioativas altamente tóxicas para o inseto (SANCHES, 2002; FREIRE, 2015).

O isolamento de metabólitos secundários de alguns destes microrganismos requerem condições laboratoriais sofisticadas para que se possam obter moléculas bioativas que até então se encontram ocultas, utilizando um inibidor de metiltransferase de DNA foi verificada a síntese de dois novos policétideos aromáticos glicosilados (**24** e **25**) (FIGURA 13), a partir do fungo entomopatogênico da espécie *Cordyceps indigotica* em que foi confirmado que em condições laboratoriais podem ser encontrados novos metabólitos oriundos de genes biossintéticos (ASAI et al., 2011).

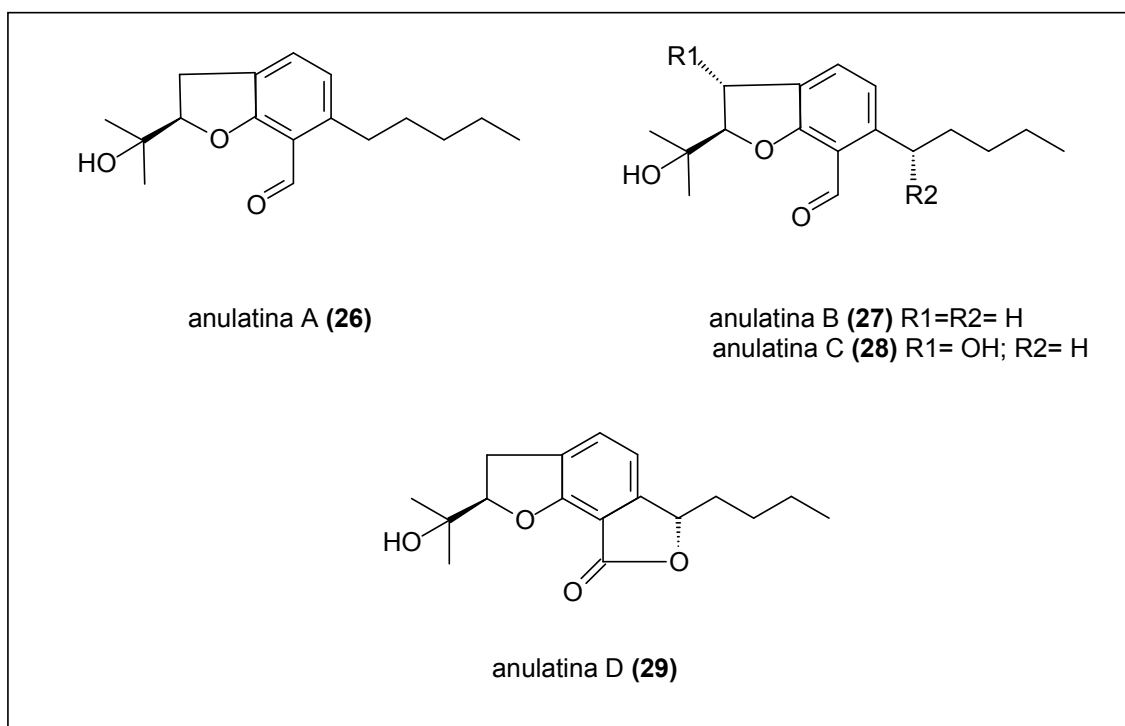
Figura 13 – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo *Cordyceps indigotica*.



Fonte: Asai et al., (2011).

Também por meio de um método de inibição química denominado inibidor de histona desacetilase (HDAC), foram isolados 4 novos compostos caracterizados como anulatinas A-D (**26-29**) (FIGURA 14) de um fungo da espécie *Cordyceps annullata* a partir do meio de cultura YM (constituído por extrato de levedura, extrato de malte, peptona e D-glucose).

Figura 14 – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo *Cordyceps annullata*.



Fonte: Asai, et al., (2012).

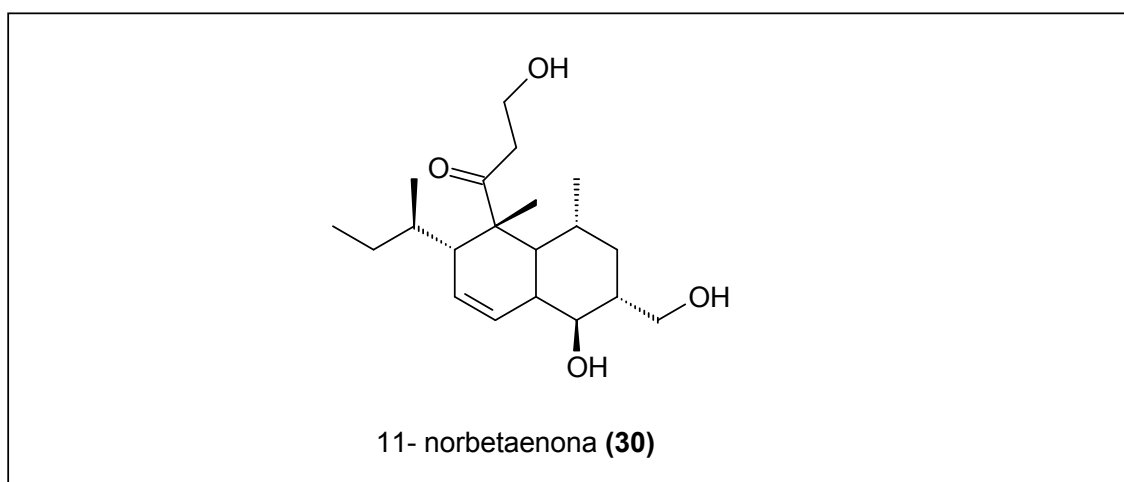
Por meio de bioensaios foi verificado que o composto **26** possui uma atividade agonística potente, enquanto que os compostos **27** e **29** possuem a mesma atividade, porém muito baixa, o que de acordo com a literatura comprova que esses novos isolados exibem atividades farmacológicas semelhantes ao tetraidrocannabiníol (ASAI, et al., 2012).

5.5 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO *Lecanicillium*.

O gênero *Lecanicillium*, é um dos principais constituintes do filo deuteromycota, com aparências algodonosas e coloração branco-amarelada tênue, são hospedeiros de uma vasta gama de insetos e também de outros fungos, além de provocarem doenças em ácaros (MACHADO, 2008).

Através do meio de cultura PDB (caldo de dextrose batata), foi o isolado uma decalina nomeada como 11-norbetaenona (**29**) (FIGURA 15) do fungo *Lecanicillium antillanum* (Li et al., 2017).

Figura 15 – Fórmula estrutural da 11-norbetaenona isolada do fungo *Lecanicillium antillanum*.

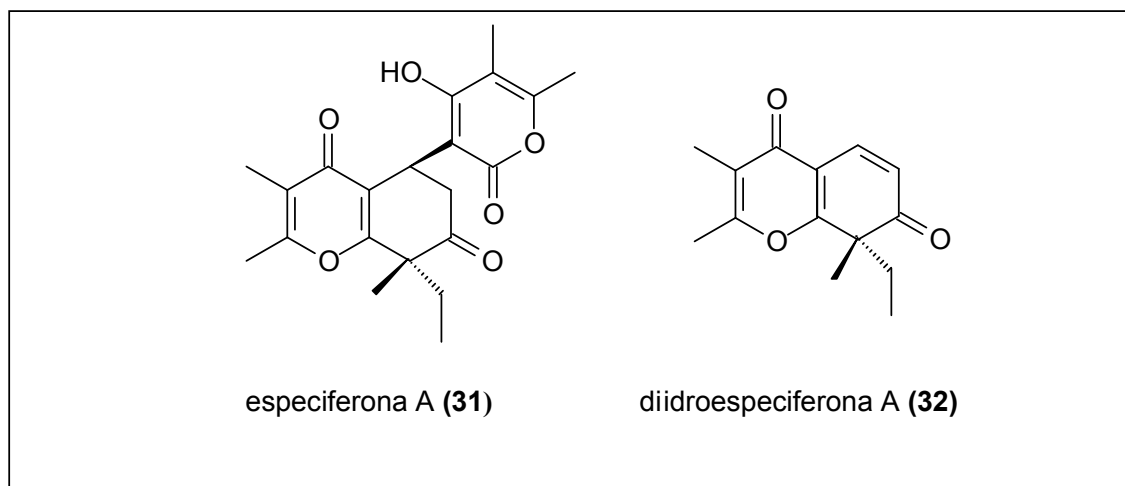


Fonte: Li et al., (2017)

Ensaio biológicos realizados com este metabólito contra três linhagens diferentes de células cancerígenas humanas (HepG2, MDA-MB231 e A549) mostraram resultados pouco satisfatórios, também não foram obtidos êxitos nos ensaios de atividades antiinflamatórias e antimicrobianas, no entanto este mesmo metabólito apresentou uma elevada atividade anti-angiogênica, o que abre um novo caminho para a exploração de novos produtos naturais com atividades inibidoras

para o combate de doenças diretamente ligadas a angiogênese (LI et al., 2017). A partir de um meio de cultura líquido (contendo manitol 2%, d-glucose 2%, extrato de levedura 0,5%, peptona 0,5%, KH_2PO_4 0,05%, MgSO_4 0,03% e xarope de milho 0,1%) foram isolados dois metabólitos: a especiferona A (**31**) e a diidroespeciferona A (**32**) (FIGURA 16) a partir do fungo entomopatogênico da espécie *Lecanicillium sp* (WANG et al., 2017).

Figura 16 – Fórmula estrutural das especiferonas isoladas do fungo *Lecanicillium sp*.



Fonte: Wang et al., (2017).

Testes de atividades biológicas contra três diferentes linhagens de células cancerígenas (HL- 60, HCT-116 e ASPC1), foram verificados com estes metabólitos onde foi comprovado que a especiferona A (**31**) não apresentou efeitos positivos sobre qualquer uma das três células cancerígenas, por outro lado a diidroespeciferona A (**32**), demonstrou atividade razoável sobre estas mesmas células (WANG et al., 2017).

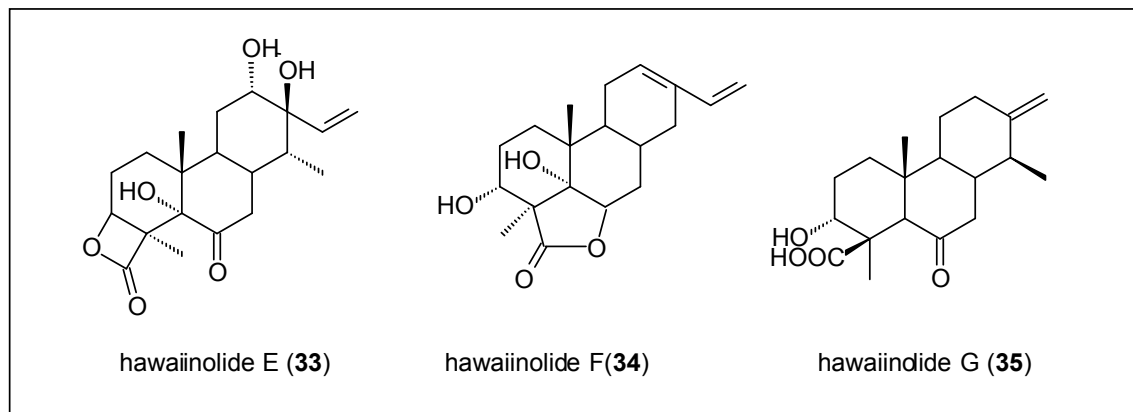
5.6 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE FUNGOS DO GÊNERO *Paraconiothyrium*.

Os fungos do gênero *Paraconiothyrium* fazem parte do filo Ascomycota e são comumente encontrados nos ambientes terrestres, além disso, eles são caracterizados como agentes patogênicos de algumas plantas e utilizados em controles biológicos (ZEINER et al., 2016).

Investigações feitas através de extratos de AcOEt de um meio de cultura do tipo PDA, levaram ao isolamento de três novos diterpenóides (hawaiinolides E-G:**33-35**) do fungo da espécie *Paraconiothyrium hawaiiense*, que foi encontrado em

associação com um inseto da espécie *Diaspidiotus* sp (FIGURA 17) (CHEN et al., 2014).

Figura 17 – Fórmula estrutural dos diterpenoides isolados do fungo *Paraconiothyrium hawaiiense*



Fonte: Chen et al., (2014).

Atividades farmacológicas foram verificadas por meio de bioensaios com quatro linhagens celulares cancerígenas humanas (T24, HeLa, SW480 e MCF-7), onde foi observado que o composto Hawaiiinolide E (33), apresentou IC₅₀ com valores bem próximos aos da cisplatina (TABELA 5) (CHEN et al., 2014).

Tabela 5 – Comparação dos valores de IC₅₀ para quatro diferentes linhagens cancerígenas humanas.

Células tumorais humanas	Valores de IC ₅₀ para a Hawaiiinolide E (μM)	Valores de IC ₅₀ para a Cisplatina (μM)
T24	9,32	8,43
HeLa	22,4	8,59
SW480	20,2	12,1
MCF-7	14,9	10,5

Fonte: Aútor(a) Própria, (2018).

O efeito de maior atividade anticancerígena foi verificada para a célula T24 na qual a hawaiiinolide E (33) apresentou efeito citotóxico positivo bem próximo da cisplatina, mesmo caso ocorrendo para linhagem celular MCF-7, no entanto, os valores de IC₅₀ para outras duas células tumorais (HeLa e SW480), mostraram que as concentrações da hawaiiinolide E (33) foram bem maiores que o da Cisplatina, isso mostra que este composto tem uma atividade anticancerígena bastante significativa mas que se comparado ao padrão da Cisplatina, é um pouco alta (CHEN et al., 2014).

Os mesmos estudos de atividades foram realizadas para o composto hawaiiinolide F (35), onde foi observado que o mesmo não apresentou nenhum efeito

sobre qualquer uma das quatro linhagens celulares a um limite de detecção de IC50 próximos de 50 μ M, para tanto, utilizando o mesmo limite de detecção de atividade para o composto hawaiinólido G (**36**), foram obtidos valores de IC50 muito elevados para três, das quatro linhagens celulares (T24, HeLa e MCF-7), não tendo obtido efeito de atividade sobre a célula SW480 (CHEN et al., 2014).

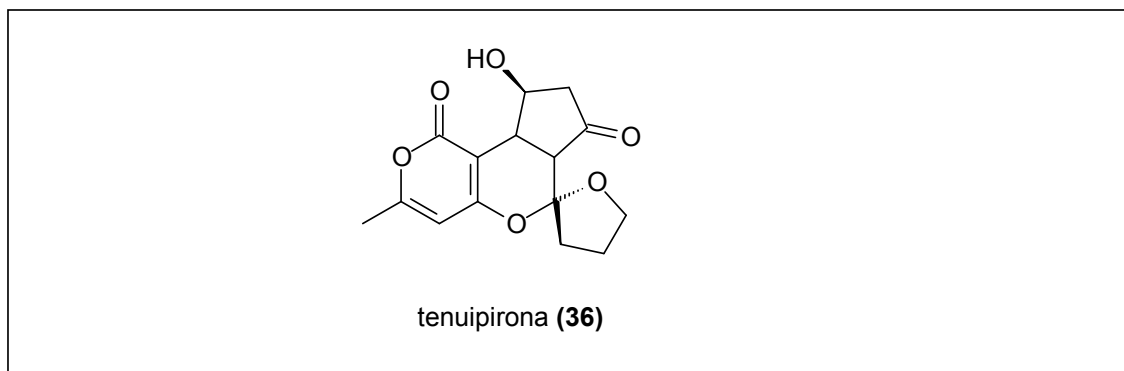
Com base no que foi descrito, observa-se que os diterpenos de origem fúngica mostraram serem poderosos agentes farmacológicos para o combate de células tumorais cancerígenas humanas, além de outras possíveis aplicações.

5.7 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO *Isaria*.

Inclusos no filo Ascomycota, os fungos do gênero *Isaria* ocasionam a morte de diversos insetos artrópodes e são bastante utilizados para o controle de algumas pragas como a mosca-branca e pulgões (ROJAS, 2015).

Recentemente pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de modificadores epigenéticos como a HDAC e os inibidores de DNA, conduziram a síntese de um derivado policétideo esquelético denominado tenuipirona (**36**) (FIGURA 18), que foi isolado do fungo da espécie *Isaria tenuipes* (ASAI et al., 2011).

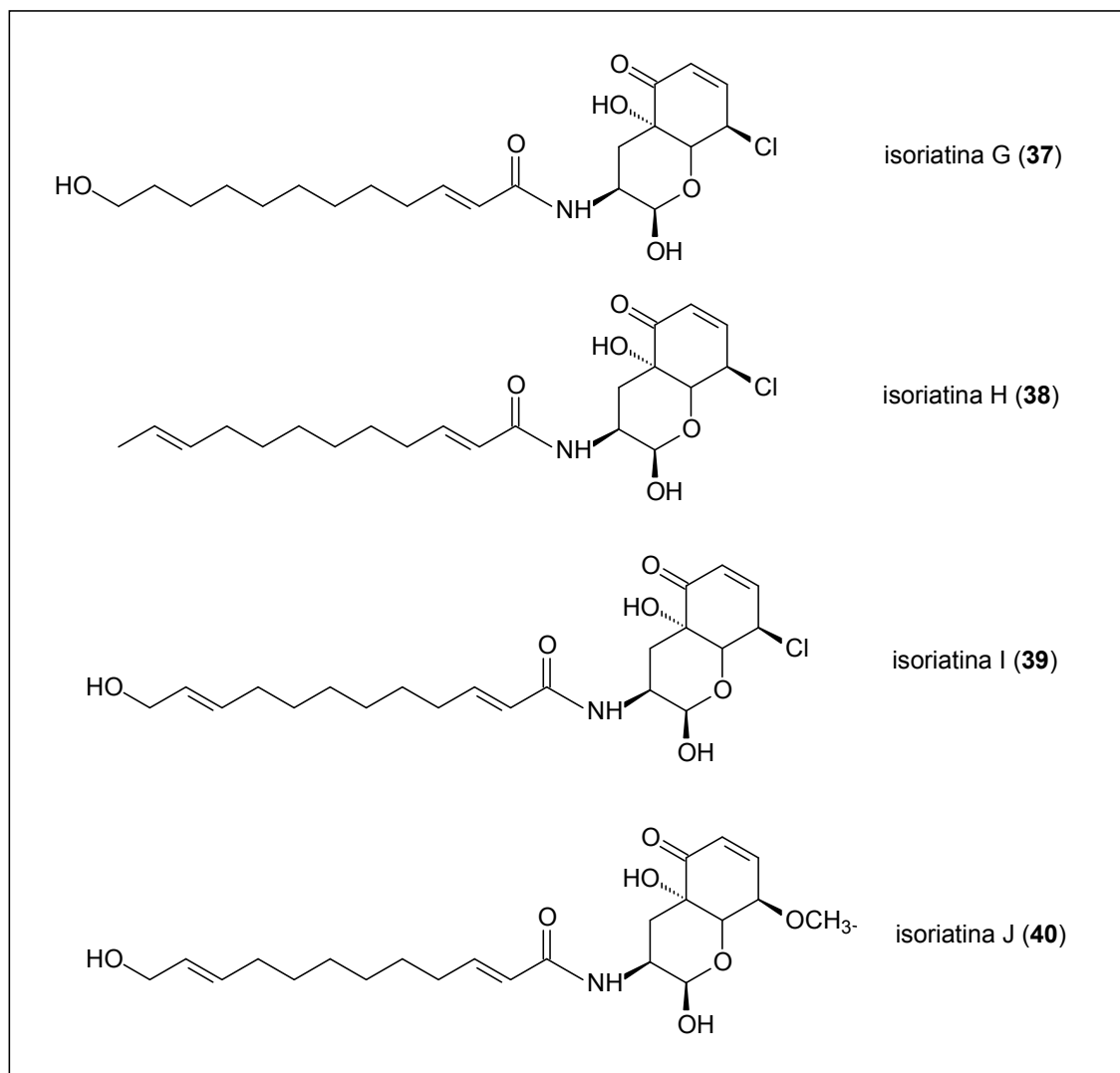
Figura 18 – Estrutura da tenuipirona, um metabólito secundário isolado do fungo *Isaria tenuipes*.



Fonte: Asai et al., (2011).

Outros metabólitos secundários foram obtidos desta mesma espécie de fungo através do meio de cultura PDA, onde foi verificado o isolamento de 4 novos alcaloides foram denominadas de isoriatinas G-J (**37-40**) (FIGURA 19) (BUNYAPAIBOONSR et al., 2011).

Figura 19 – Estruturas das isoriatinas isoladas do fungo entomopatogênico *Isaria Tenuipes*.



Fonte: Bunyapaiboonsr et al., (2011).

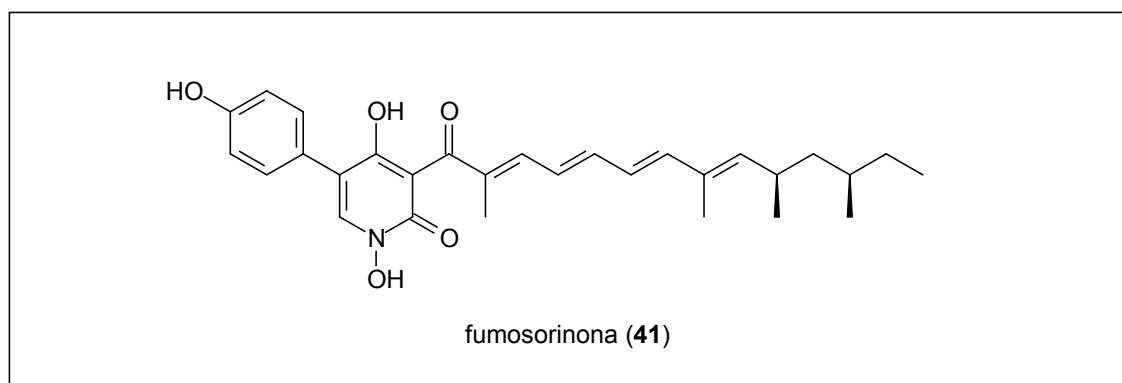
Bioensaios foram realizados para verificar os efeitos citotóxicos destes compostos (**37-40**) frente as linhagens celulares cancerígenas humanas (KB, MCF-7 e NCI-H187) assim como atividades antimaláricas (BUNYAPAIBOONSR et al., 2011).

Com exceção da isoriatina H (**38**), todas as moléculas apresentaram atividades citotóxicas e antimaláricas, com valores de IC₅₀ bastante significativos, sendo a isoriatina J (**40**), com atividade citotóxica mais acentuada, com um valor de IC₅₀ de 2,98 µg/ml, frente a linhagem celular cancerígena KB, o mesmo ocorrendo para a sua atividade antimalárica e para celular MCF-7 com valores respectivamente de 2,19 e 4,37 µg/ml, já para a linhagem celular cancerígena NCI-H187, a isoriatina

I (40), foi o único metabólito que apresentou atividade citotóxica significativa com valor de IC₅₀ de 2,25 µg/ml, os demais compostos mostraram valores muito altos, comprovando as suas baixas atividades (BUNYAPAIBOONSR et al., 2011).

Similarmente utilizando o meio de cultura PDA, foi relatada a síntese de um novo alcaloide 2-piridona caracterizado como fumosorinona (41) (FIGURA 20) a partir do fungo *Isaria fumosorosea* (LIU et al., 2015).

Figura 20 – Fórmula estrutural da fumosorinona, isolada do fungo *Isaria fumosorosea*.



Fonte: Liu et al., (2015).

Bioensaios foram realizados com este metabólito em testes com ratos, onde foi encontrado um valor 14,04 IM de IC₅₀, no combate a enzima PTP1B, que é um fator de resistência à de insulina, que é conhecida como diabetes melitus do tipo 2 (LIU et al., 2015).

Após os testes foi observado que a fumosorinona (41) inibiu a atividade de PTP1B, além de não oferecer riscos de citotoxicidade, se caracterizando como um poderoso agente terapêutico no combate da diabetes tipo 2 (LIU et al., 2015).

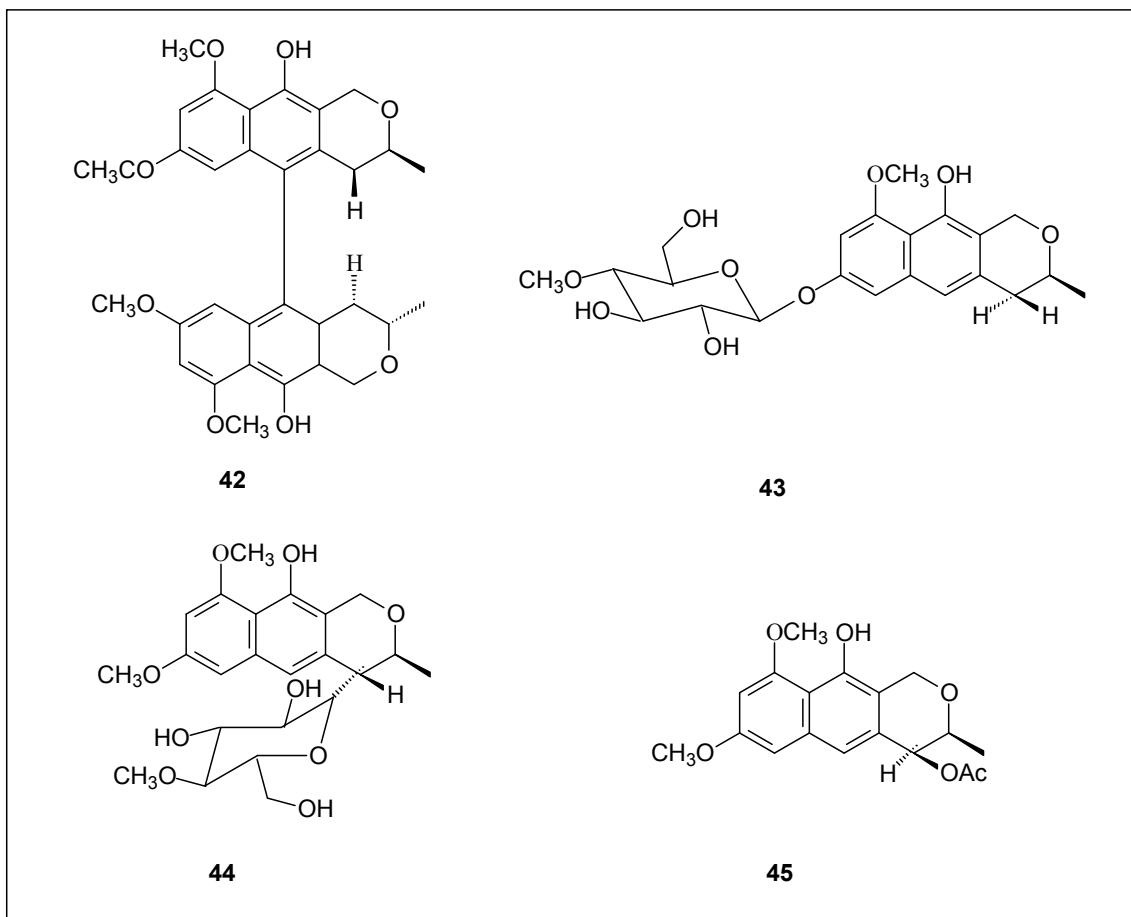
5.8 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO *Conoideocrella*.

Os fungos do gênero *Conoideocrella* fazem parte da família Clavicipitaceae do filo Ascomycota, parasitam principalmente insetos artrópodes e hemípteros (ASAI et al., 2011).

A partir do fungo da espécie *Conoideocrella luteorostrata* retirado de uma borboleta (inseto da ordem Lepidoptera) e em seguida cultivado em um meio de cultura do tipo PDA, foram isolados 25 metabólitos secundários dentre os quais foram verificadas apenas a atividade de 9 destes metabólitos nos quais estavam

inclusos: um novo bioxantraceno, quatro novos isolados de oxantracenos, duas novas piranonaftoquinonas e duas antraquinonas (FIGURAS 21A E 21B) (SAEPUA et al., 2015).

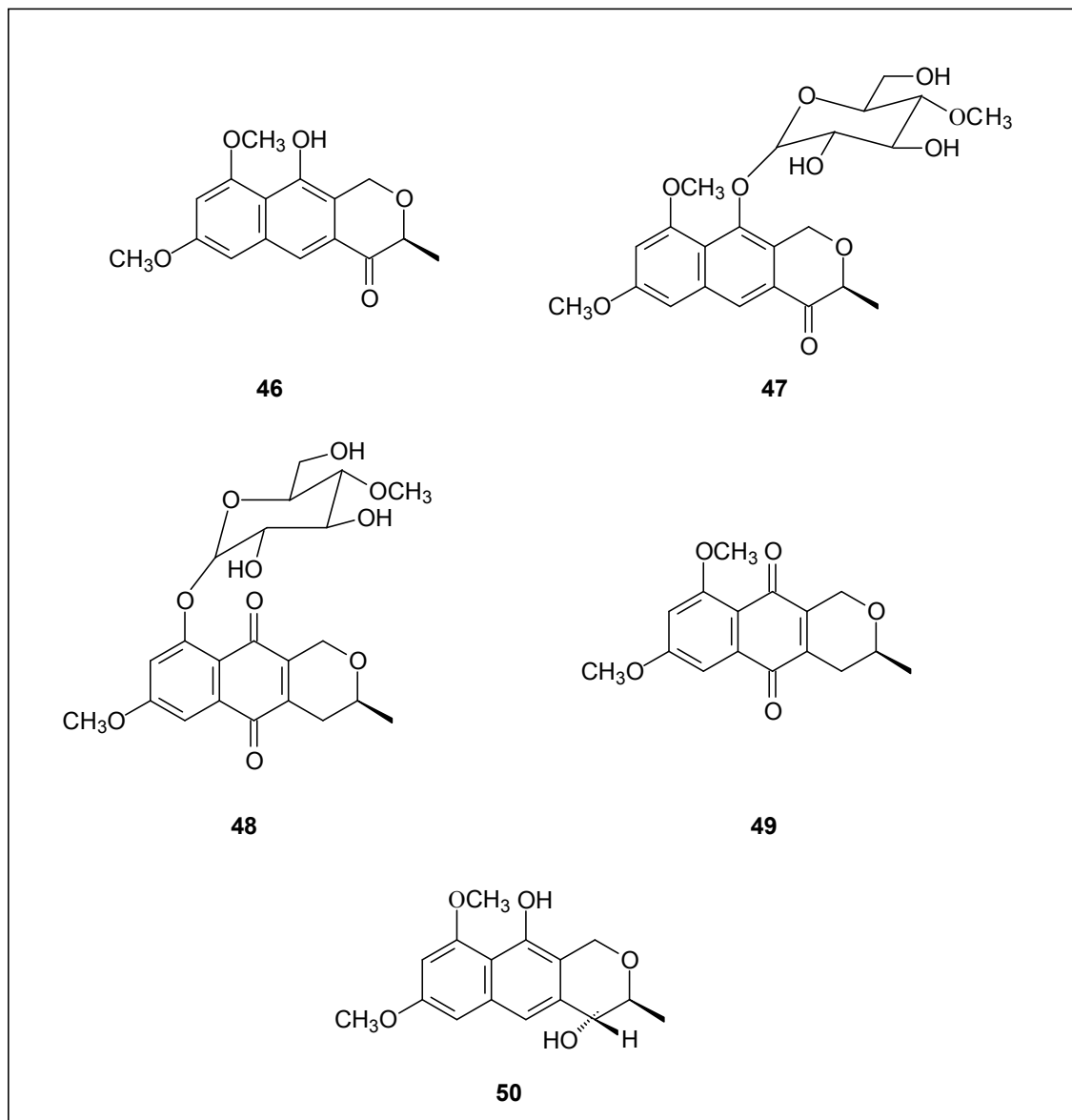
Figura 21A – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo *Conoideocrella luteorostrata*.



Fonte: Saepua et al., (2015).

Análises citotóxicas foram realizadas com esses 9 metabólitos, frente a três linhagens celulares cancerígenas humanas: KB, MCF-7 e NCI-H187, onde também foram feitas análises de atividades antipalúdicas (SAEPUA et al., 2015).

Figura 21B – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo *Conoideocrella luteorostrata*.

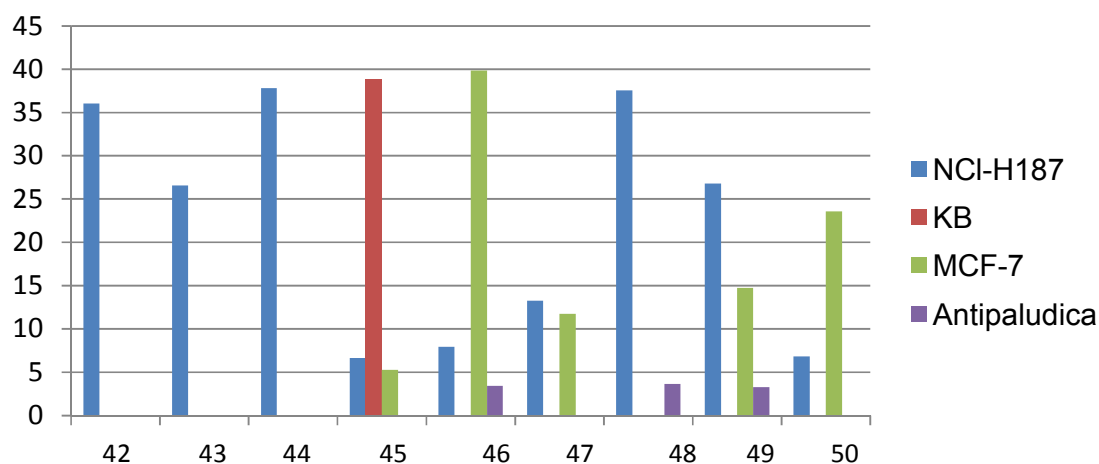


Fonte: Saepua et al., (2015).

Após a realização dos bioensaios, foi verificado que uma das naftopironas (composto **46**), e outras duas piranonaftoquinonas (compostos **48** e **49**), apresentaram uma dominante atividade antimalárica com valores acentuados de IC₅₀, quanto as análises citotóxicas os compostos **45**, **47** e **50**, demonstraram valores de IC₅₀ razoáveis, contra apenas duas células tumorais (MCF-7 e NCI-H187), já os compostos **42**, **43** e **44** apresentaram atividades contra as linhas celulares NCI-H187, porém, muito baixas, no entanto o composto **45**, foi o único que apresentou atividade muito baixa para as linhas celulares KB (SAEUPUA et al.,

2015). O gráfico a seguir mostra de forma simplificada os valores de IC50 correspondentes a cada um dos bioensaios citotóxicos realizados com compostos isolados.

Gráfico 02 – Valores de IC50 para atividade biológica dos compostos isolados.



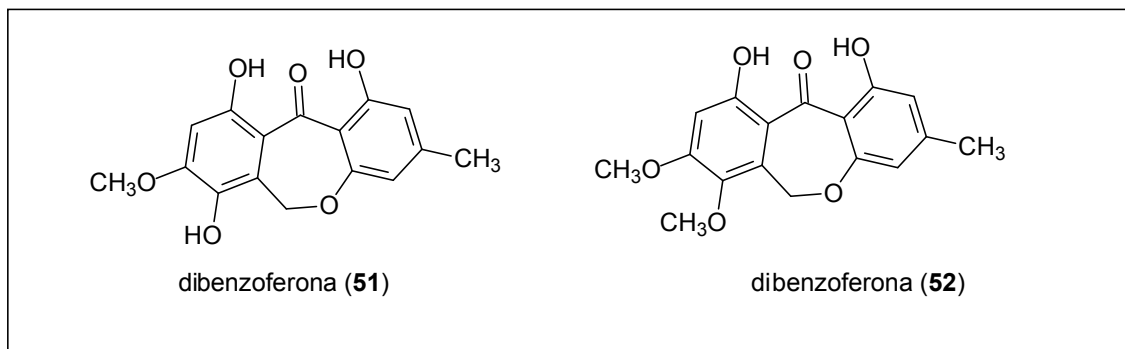
Fonte: Adaptado de Saepua et al., (2015).

5.9 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS DO GÊNERO *Aschersonia*.

Principais causadores de epizootias em moscas-brancas (Aleyrodidae) e alguns coccídeos, atuando principalmente em regiões tropicais e subtropicais, os fungos do gênero *Aschersonia* são considerados um dos grupos de fungos mais estudados para o controle de insetos (OLIVEIRA, 2008). Em estudos realizados com a espécie *Aschersonia luteola*, utilizando um meio de cultura PDA, foram isoladas duas dibenzo [b,e] oxepinonas (**51** e **52**) (FIGURA 22) (KORNSAKULKARN et al., 2015).

Dois bioensaios foram realizados com estes compostos, com o intuito de testar atividades antibacterianas e os efeitos citotóxicos frente a três linhagens celulares tumorais diferentes (KB, MCF-7 e NCI-H187), onde foi observado que ambas as dibenzoferonas não apresentaram atividade citotóxica sobre qualquer das linhagens cancerígenas testadas (KORNSAKULKARN et al., 2015). Segundo SCOCCIA et al (2016), a dibenzoferona **51** já foi descrita com uma importante atividade antitumoral contra o câncer gástrico (BGC823)

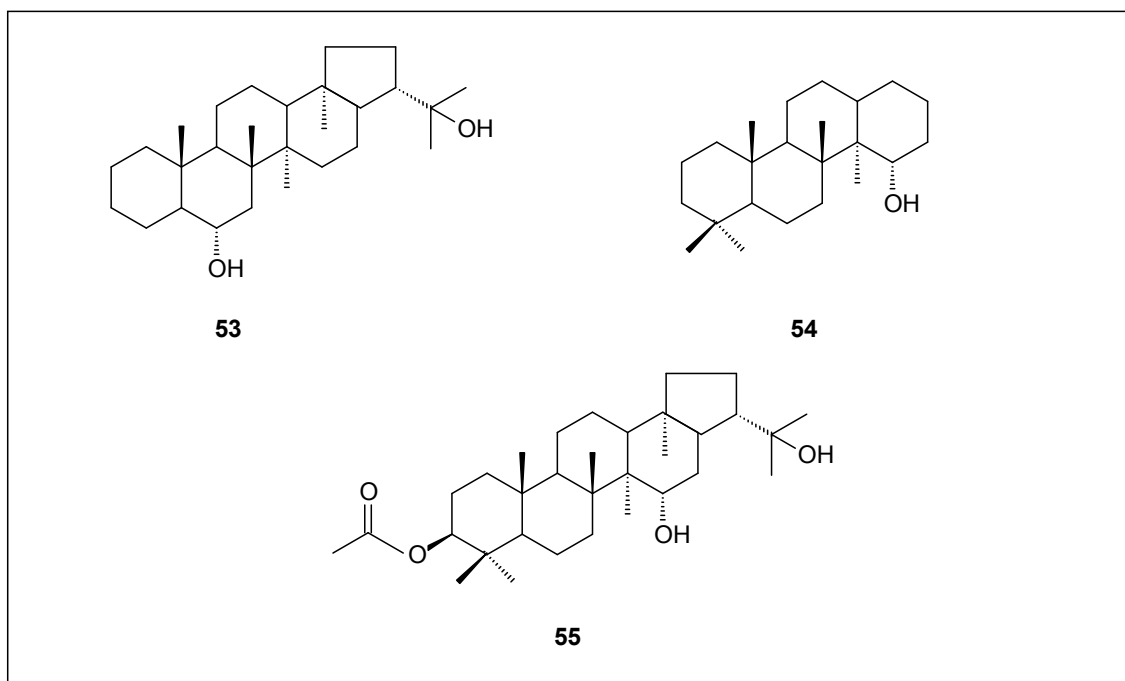
Figura 22 – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo entomopatogênico *Aschersonia luteola* BCC 31749.



Fonte: Kornsakulkarn et al., (2015).

Estudos realizados com extratos fúngicos do entomopatógeno *Hypocrella spp.* e seus anamorfos do gênero *Aschersonia* cultivados em meio de cultura PDB (caldo de batata de dextrose) mostraram o isolamento de três hopanos triterpenos (**53-55**) nos quais foram identificadas atividades inibitórias com um valor de MIC (concentração inibitória de mínima) de 12,5 µg/mL contra a tuberculose (ISAKA et al., 2009). A figura 23 representa as estruturas químicas destes metabólitos isolados.

Figura 23 – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo entomopatogênico *Hypocrella spp.* e seu anamorfo *Aschersonia*.

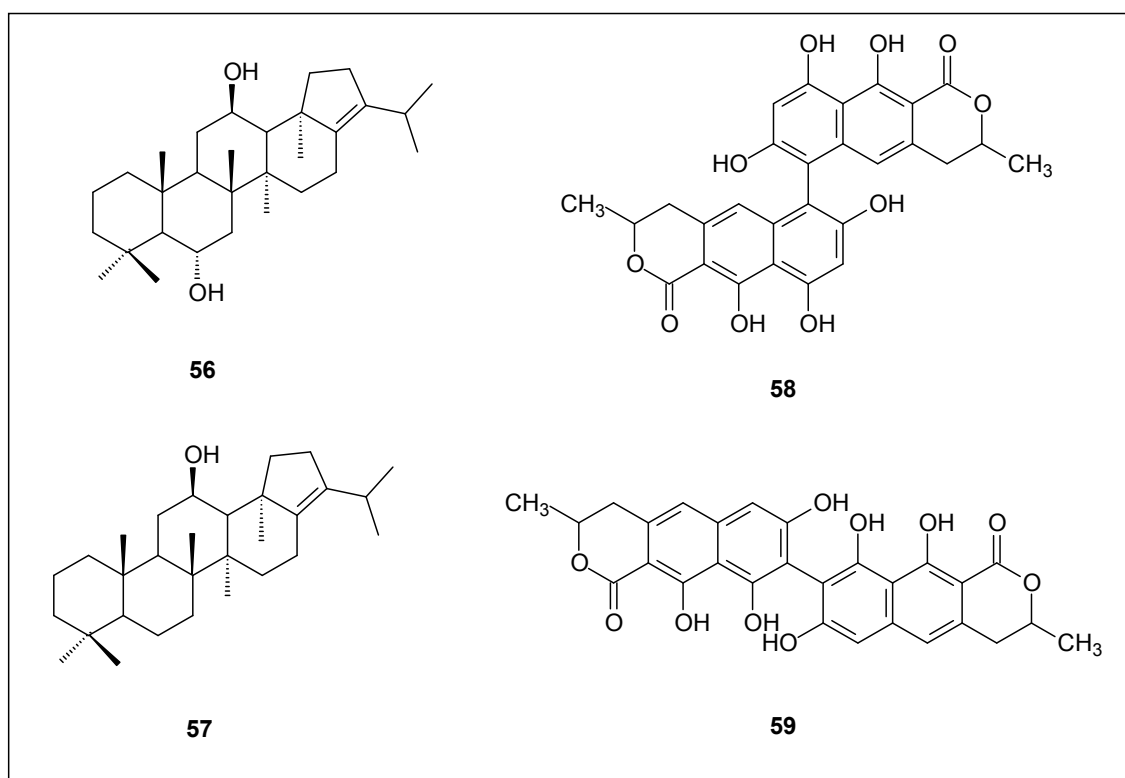


Fonte: Isaka et al., (2009).

Segundo Isaka et al., (2009) esses triterpenoides podem ser considerados importantes marcadores quimiotaxonômicos das espécies *Hypocrella spp.* e de seus anamorfos *Aschersonia*. Isso se dá pelo o fato de que essa classe de metabólitos secundários serem muito comuns quando os extratos deste fungo são fermentados em um meio de cultura líquido (ISAKA et al., 2009).

Em outro meio de cultura também do tipo PDB foi relatada a síntese de dois novos triterpenos (**56** e **57**) e duas novas dihidronaftopironas (**58** e **59**) do fungo patógeno de insetos da espécie *Aschersonia paraphysata* e seus telemorfos *Hococrella* que estava hospedado em um inseto pertencente a classe hemíptera (FIGURA 24) (ISAKA et al., 2010).

Figura 24 – Estrutura dos metabólitos secundários isolados do fungo entomopatogênico *Aschersonia paraphysata* e seu telemorfo *Hococrella sp.*



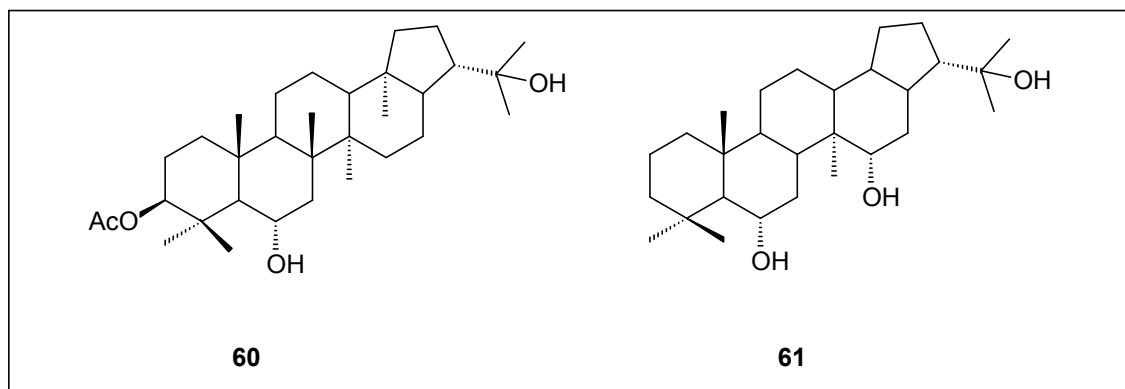
Fonte: Isaka et al., (2010).

Ensaio biológicos demonstraram que o composto **56** apresentou uma potente atividade antimalárica contra o parasita *Plasmodium falciparum*, com um valor de IC₅₀ de 15 µg/ml, porém não apresentou nenhum efeito frente as linhagens celulares NCI-H187, MCF-7 e KB, enquanto que composto **57**, não apresentou atividades sobre qualquer uma das células, já o composto **58** apresentou uma

atividade antimalárica considerável com o valor de IC₅₀ de 7,3 µg/ml, assim como efeitos citotóxicos, porém fracos contra as linhas celulares MCF-7 e KB, e uma atividade potente contra a linha celular cancerígena NCI-H187, com um valor de IC₅₀ de 4,5 µg/ml, o composto **59** assim como o composto **57**, mostrou atividade fraca e num teve efeito citotóxicos significativos contra qualquer uma das linhagens celulares (ISAKA et al., 2010).

Através do meio de cultura PDA foi identificado o isolamento de 2 novos triterpenos hopanoides (compostos **60** e **61**) (FIGURA 25), provenientes do fungo da espécie *Aschersonia calendulina* (ISAKA et al., 2012).

Figura 25 – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo entomopatogênico *Aschersonia calendulina*.

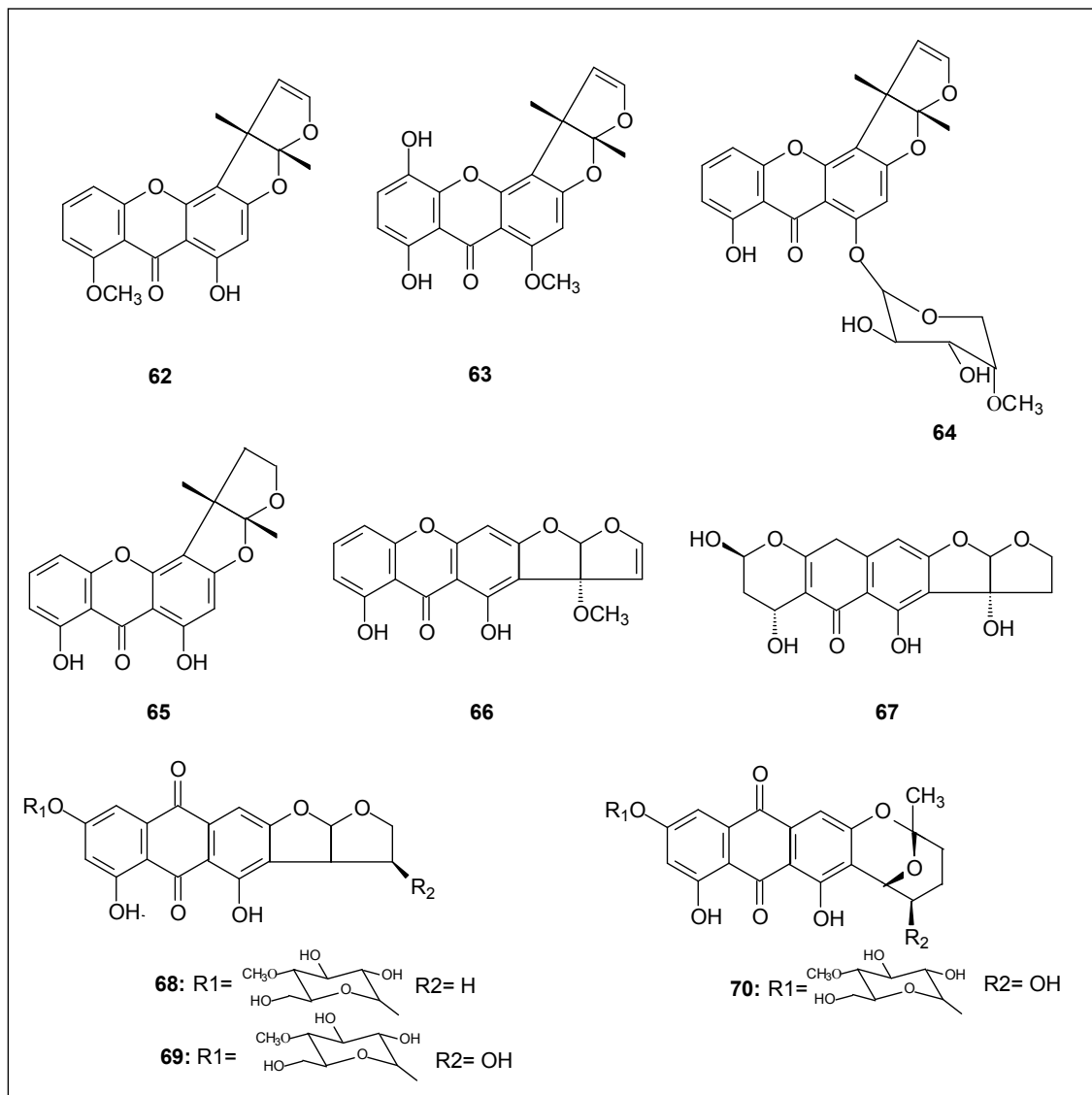


Fonte: Isaka et al., (2012).

Utilizando esse mesmo meio de cultura foi identificado o isolamento de 9 novas micotoxinas do espécime de fungo *Aschersonia coffeae*, dentre as quais estão, cinco xantonas (**62-66**), uma hidroxantona (**67**) e três antraquinonas (**68-70**) (KORNSAKULKARN et al., 2012).

Atividades citotóxicas foram testadas com todos os novos compostos isolados, onde ficou evidente que o composto **63** e os compostos **69** e **70** exibiram uma potente atividade antipaludica com valores de IC₅₀ respectivamente de 8,54; 3,88 e 1,60 µg/ml, para as linhagens celulares cancerígenas NCI-H187 foi relatado que os compostos **62**, **63**, **69** e **70**, mostraram uma potente atividade citotóxica, com valores de IC₅₀ respectivamente de 1,17; 2,86; 8,06 e 5,12 µg/ml, os demais compostos se mostraram ativamente fracos com valores de IC₅₀ superiores a 10 µg/ml, e nenhum dos compostos se mostraram ativos com a linha celular MCF-7 (KORNSAKULKARN et al., 2012). A figura 26 mostra a fórmula estrutural dessas micotoxinas isoladas desse fungo.

FIGURA 26 – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo entomopatogênico *Aschersonia coffeae*.



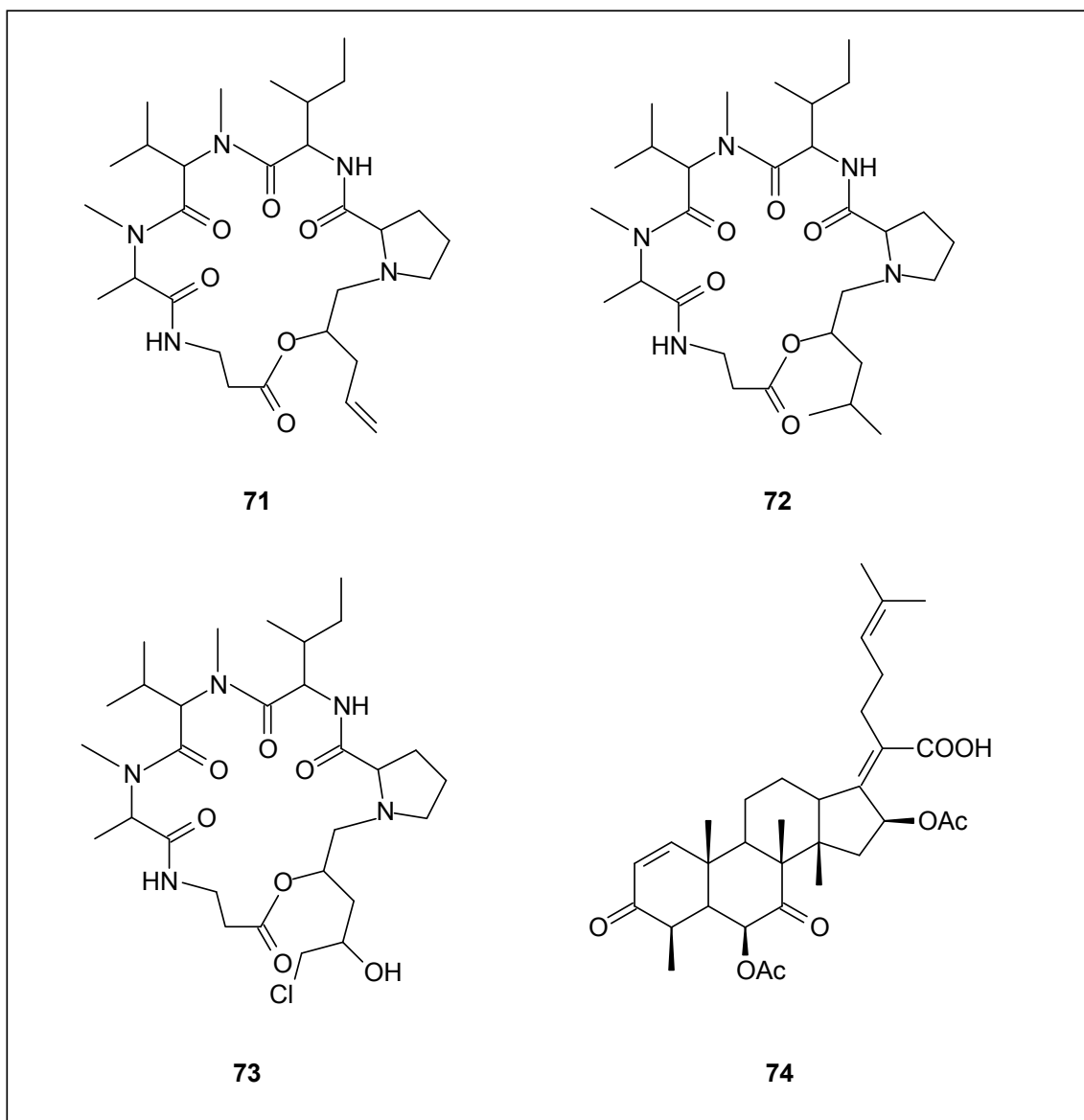
Fonte: Kornsakulkarn et al., (2012).

5.10 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS DO GÊNERO *Ophiocordyceps*.

Os fungos do gênero *Ophiocordyceps* são conhecidos por suas características próprias com a produção de estromas, e parasitam principalmente trufas (*Elaphomyces*) e ninfas de cigarras (*Hemiptera, Auchenorrhyncha*) (FREIRE, 2015).

A partir de um meio de cultura de sacarose com o fungo da espécie *Ophiocordyceps coccidiicola* foram identificadas duas destruxinas (**71** e **72**), uma cloridrina (**73**) e um derivado de ácido helvólico (**74**), que em testes citotóxicos mostram-se potentes atividades parasita *Trypanosoma Brucei* (GANAHA et al., 2016). A figura 27 representa a fórmula estrutural destes compostos.

Figura 27 – Fórmula estrutural dos metabólitos secundários isolados do fungo entomopatogênico *Ophiocordyceps coccidiicola*.



Fonte: Ganaha et al., (2016).

Os bioensaios demonstraram que todos os compostos isolados apresentaram atividade antitripsossomática contra o parasita *Trypanosoma Brucei* com valores de IC₅₀ de 0,33 µg/ml para o composto **71**, 0,16 µg/ml para o composto **72**, 0,061 µg/ml

para o composto **73** e 5,08 µg/ml para o composto **74**, visto que este último apresentou uma atividade equivalente a 26 vezes maior se comparado ao suramin que é um medicamento bastante utilizado no combate a doença do sono que é provocada por esse parasita (GANAHA et al., 2016). Esta auto eficiência da atividade farmacológica do composto **74**, se deve ao grupo hidroxila ligado na posição C-1γ, na cadeia e também ao átomo de cloro ligado na posição C-1δ.

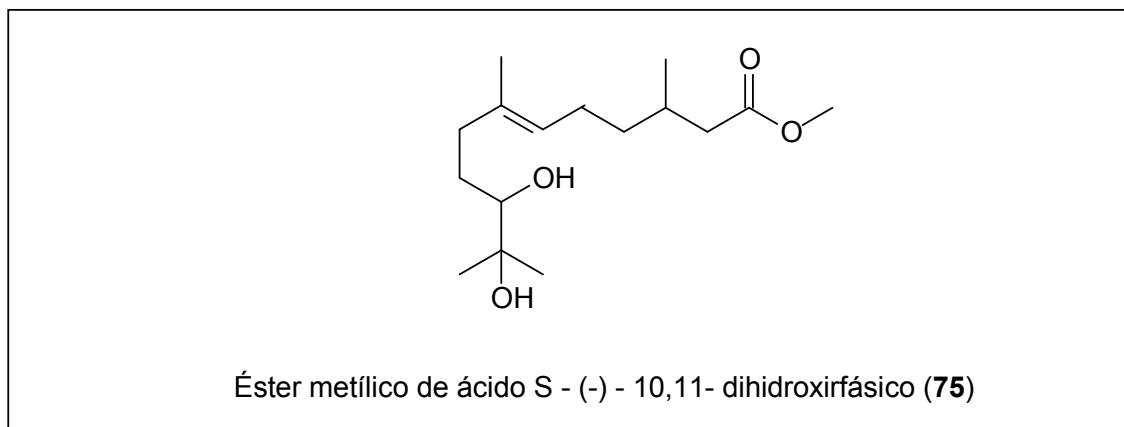
Além disso, em células de fibroblastos diploides humanos (conhecidos como MRC-5), os valores de IC50 constataam que a destruxina **72** apresenta dobro de atividade, quando comparada a destruxina **71**, fato que é justificado por conta do grupo 2-propenilo presente em sua cadeia estrutural (GANAHA et al., 2016).

5.11 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS DO GÊNERO *Beauveria*.

Beauveria é um gênero que faz parte do filo Deuteromycetos e apresentam uma grande quantidade de hospedeiros e podendo ser facilmente identificados pelos seus conídios volumosos (SOUZA, 2012). Os fungos obtidos da espécie *Beauveria bassiana* possuem atividades contra mosquitos responsáveis pela malária e larvas do mosquito *Aedes aegypti* (LOPEZ et al., 2015; SHAPSHAK et al., 2015).

O éster metílico de ácido S - (-) - 10,11- dihidroxirfásico (**75**) (FIGURA 26) foi isolado deste fungo onde foi identificada uma potencial atividade contra as larvas do mosquito da dengue, além de uma potencial inibição de síntese de melanina. Outros testes comprovaram também que o mesmo não provoca irritação na pele e nem nos olhos, que de acordo com os pesquisadores é possível que o composto (**75**) possa ser utilizado comercialmente para a utilização de biomateriais (BAEK et al., 2014).

Figura 28 – Fórmula estrutural do éster metílico de ácido S - (-) - 10,11-dihidroxirfásico isolado do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*.

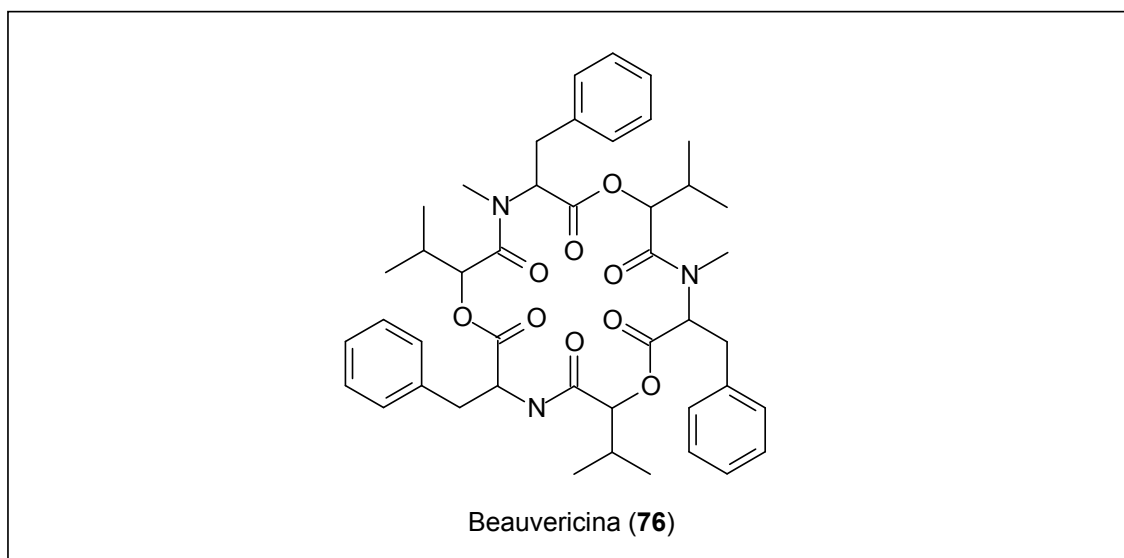


Fonte: Patocka, (2016).

Joyner e Chichewicz (2011), propõem que os fungos da espécie *Beauveria bassiana* é uma fonte de um metabólito secundário que pode vir a ser utilizado no tratamento de doenças neurodegenerativas como o Alzheimer e mal de Parkinson.

Uma micotoxina característica isolada a partir do fungo *Beauveria bassiana* conhecida como beauvericina (**76**) (FIGURA 29) apresentou atividades antitumorais e antibacterianas (WANG; XU 2012).

Figura 29 – Fórmula estrutural da beauvericina, metabólito secundário característico do fungo *Beauveria bassiana*.



Fonte: Wang e Xu, (2012).

Esse metabólito tem uma vasta aplicação comercial para produção de inseticidas contra uma gama muito ampla de insetos além de atividades

cancerígenas contra células leucêmicas, no entanto ainda são necessários estudos mais aprofundados sobre a citotoxicidade deste metabólito (WANG & XU, 2012).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com as pesquisas realizadas nos bancos de dados *Science Direct* e *Web of Science* foi constatada a existência de 41 artigos que relatavam o isolamento de metabólitos secundários de fungos patógenos de insetos, dos quais 48,78 % relataram atividade farmacológica, 21,95% apontaram a criação de novos produtos agrícolas, 9,75 % aplicações na indústria de maneira geral e 19,52 % retrataram apenas o isolamento destes metabólitos, totalizando assim 17 espécies diferentes destes fungos.

Nos trabalhos que foram pesquisados entre os anos de 2007-2017 foi identificado um total de 70 metabólitos secundários isolados dos fungos entomopatogênicos, entre esses compostos, várias classes de produtos naturais (alcaloides, antracenos, antraquinonas, benzofenonas, destruxinas, diterpenos, especiferonas, policétideos, piranonaftoquinonas, naftopironas e xantonas).

Das aplicações desses metabólitos secundários foram verificados nos artigos acadêmicos que as suas atividades farmacológicas se concentraram principalmente no combate às linhagens celulares cancerígenas, atividades antituberculares, antimaláricas, antiinflamatórias e doenças neurodegenerativas o que mostra que estes compostos são uma rica fonte para a criação de novos medicamentos. Na agricultura esses metabólitos apresentam uma larga aplicação na criação de inseticidas contra pragas agrícolas, e na indústria eles mostraram úteis para a fabricação de cosméticos e produtos similares.

Os produtos naturais provenientes dos fungos entomopatogênicos configuram-se como uma das principais fontes de compostos biologicamente ativos com diversas aplicações incluindo a criação de novos fármacos e produtos industrializados de interesse crucial para a sociedade de maneira geral. Os resultados obtidos por meio deste estudo contribuirão de forma significativa para o conhecimento químico e farmacológico dos metabólitos secundários isolados a partir de fungos entomopatogênicos visto que as pesquisas de produtos naturais fúngicos encontram-se ainda em desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

- ASAI, T.; YAMAMOTO, T, CHUNG, Y. M.; CHANG, F.R.; WU, Y.C.; YAMASHITA, K.; OSHIMA, Y.; Aromatic polyketide glycoside from an entomopathogenic fungus, *Corcydops indigotica*. **Tetrahedron Letters**. n. 53, p. 277-280. Japan, Oct. 2011.
- ASAI, T.; LUO, D.; TANIGUCHI, T.; MONDE, K.; YAMASHITA, K.; OSHIMA, Y. Dihydrobenzofurans as cannabinoid receptor ligands from *Cordyceps annulata*, an entomopathogenic fungus cultivated in the presence of an HDAC inhibitor. **Tetrahedron Letters**, n. 53, p. 2239-2243, Feb. 2012.
- ASAI, T.; CHUNG, Y, M.; SAKURAI, H.; OZEKI, T.; CHANG, F, R.; YAMASHITA, K.; OSHIMA, Y. Tenuipyrone, a Novel Skeletal Polyketide from the Entomopathogenic Fungus, *Isaria tenuipes*, Cultivated in the Presence of Epigenetic Modifiers. **Organic Letters**. n. 2, p. 513-515, Nov, 2011.
- AINSWORTH, G.C. Introduction to the history of micology. Cambridge, Univerity Press, 1976. Disponível em: <https://www.amazon.com/Introduction-History-Mycology-G-Ainsworth/dp/0521112958>. Acesso em: 23 jul. 2017.
- ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A. Controle biológico da cigarrinha-da-raiz da canade-açúcar com o fungo *Metarhiziumanisopliae*. **Boletim Técnico do Instituto Biológico**, São Paulo, 19p., 2006.
- ALVES, S. B.; PEREIRA, R. M. Produção de fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B.(Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: Esalq, 1998 p. 845-869.
- ALVES, S.B. **Caracterização, padronização e produção de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.** 1982. 95p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos , In: ALVES, S.B. Controle microbiano de Insetos. Piracicaba: **Fealq**, 1998. p. 289-381.
- ALVES, S.B.; ALMEIDA, J. E. M.; MOINO, J. R. A.; ALVES, L. F. A. Tecnicas de laboratório. In: ALVES, S.B. Controle microbiano de Insetos. Piracicaba: **Fealq**, 1998.
- BAEK, S. H.; AHN, J. W.; NAM, S. H.; YOON, C. S.; SHIN, J. C.; LEE, S. H. S-(-)-10,11-Dihydroxyfarnesoic acid methyl ester inhibits melanin synthesis in murine melanocyte cells. **Int J Mol Sci**. n. 15, p.12750–12763, 2014.
- BENCHIMOL, J.L.; AND Sá, ;m.r.; eds. Andorgs. *Aldopho Lutz: Dermatologia e Micologia= DermatologyandMicology*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2004. 620p.

BHIMBA, B. V.; JOEL, E. L. Biological activity of secondary metabolites isolated from mangrove fungi *Neurospora crassa*. **Pubmed. gov.** v. 34, n. 4, p. 729-732, Jul, 2013.

BOECKER, S.; ZOBEL, S.; MEYER, V.; SUSSMUTH, R. D. Rational biosynthetic approaches for the production of new-to-nature compounds in fungi. *Fungal Genetics and Biology*, Germany, n. 89, p. 89-101, Feb. 2016.

BOLZANI, V. S.; SILVA, D. H. S.; PINTO, A. C.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**. v. 25, p. 45-61, 2002.

BORGES, L.R. **Eficiência de *beauveria bassiana* (bals.) vuill. (deuteromycota) para o controle de *hedypathes betulinus* (klug) (coleoptera: cerambycidae) em erva-mate, *ilex paraguariensis* st. hil. (aquifoliaceae).** 2007. 102 fl. Tese (Doutorado em Ciências Bilógicas) – Universidade Federal do Paraná, PR, 2007.

BRASIL. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA. **Material Complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos.** Florianópolis, 2015. 47 p.

BRITO, M. M. **Prospecção científica e tecnológica do gênero *Hibiscus* (MALVACEAE).** 2017. 66 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Parnaíba, 2017.

BUNYAPAIBOONSRI, T.; YOIPROMMARAT, S.; SRISANO, U.; CHOOWONG, W.; TASANATHAI, K.; NIGEL, L.; JONES, H.; JENNIFER, J. L.; ISAKA, M. Isariotins G–J from cultures of the Lepidoptera pathogenic fungus *Isaria tenuipes*. **Phytochemistry Letters**. n. 4, p. 283-286, May, 2011.

CARLTON, B.C. **Development and commercialization of new and improved biopesticides.** *Ann. New York acad. Sci.* n. 792, p.154-163, 1996.

CAROLLO, C. A.; CALIL, A. L. A.; SCHIAVE, L. A.; GUARATINI, T.; ROBERTS, D. W.; LOPES, N. P.; BRAGA, G. U. L.; Fungal tyrosine betaine, a novel secondary metabolite from conidia of entomopathogenic *Metarhizium* spp. *Fungi. British Mycological Society*, n. 114, p. 473-480, Mar, 2010.

CERVO, A. L.; BERVIAN, P. A.; DA SILVA, R. **Metodologia Científica.** 6. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2007. p. 61.

CHEN, S.; ZHANG, Y.; ZHAO, C.; REN, F.; LIU, X.; CHE, Y. Hawaiiinolides E–G, cytotoxic cassane and cleistanthane diterpenoids from the entomogenous fungus *Paraconiothyrium hawaiiense*. **Fitoterapia**, n. 99, p. 236-242, Oct. 2014.

CONTI, R.; GUIMARÃES, D.O.; PUPO, M.T. **Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbiotes como fonte de produtos naturais.** SBPC: ciência e cultura, São Paulo, v. 64, n 3. P 1-47, 2012.

CRUZ, C. E. M.; GRAFF, A. C.; RODRIGUES, M. **Controle microbiano de pulgões empregando fungos filamentosos *Isaria fumosoroseus* (*Paecilomyces***

***fumoso*roseus) e *Metarhizium anisopliae* em plantas de cultivo de morango.** Lajeado, SP, 2016. 36 p.

DEMAIN, A.L; SANCHEZ, S. Microbial drug Discovery: 80 years of progress. **The Journal of Antibiotics**. v. 62, p. 5-16, Jan. 2009.

FERNANDES, E. G.; VALÉRIO, H. M.; FELTRIN, T.; SAND, S. T. V. D. Variability in the production of extracellular enzymes by entomopathogenic fungi grown on different substrates. **Brazilian Journal of Microbiology** (2012): p. 827-833 ISSN 1517-8382. Porto Alegre/RS, Jan. 2012.

EPIFANO, F.; FIORITO, S.; TADDEO, V. A.; GENOVESE, S. Recent acquisitions on oxyphenylated secondary metabolites as anti-inflammatory agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**. p. 1-7, Aug, 2017.

FERNANDES, E.G. **Estudos dos parâmetros biológicos envolvendo fungos entomopatogênicos e *Musca domestica* (Diptera: Muscidae): Imunologia, interação patógenos-hospedeiros, fisiologia e controle biológico.** 2010. 133 fl. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, 2010.

FRANCISCO, E. A.; MOCHI, D. A.; CORREIA, A. D. B.; MONTEIRO, A. C. **Influência de meios de cultura utilizados em testes de viabilidade para isolados de *Verticillium lecanii*.** SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, Sincobiol, 8., 2003, São Paulo. Anais. São Pedro, SP: FIOCRUZ/UFPQUFRP, 2003.

FREIRE, F. M. **Taxonomia e distribuição de *Ophiocordyceps dipterigena* (Ophiocordycipitaceae, Hypocreales).** 2015. 128 fl. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, SC, 2015.

FRISVALD, J. C.; ANDERSEN, B.; THRANE, U. The use of secondary metabolite profiling in chemotaxonomy of filamentous fungi. **Mycological Research**, n. 112, p. 231-240, Fev, 2007.

FUJII, N.; YAMASHITA, Y.; ANDO, K.; AGATSUMA, T.; SAITOH, Y.; GOMI, K.; NISHIE, Y.; NAKANO, H.; UCE1022. A new antitumor antibiotic with topoisomerase I mediated DNA cleavage activity, from *Paecilomyces*. **Journal of Antibiotics** (Tokyo), v. 8, p. 949-951, 1994.

GANAHA, M.; YOSHII, K.; OTSUKI, Y.; IGUCHI, M.; OKAMOTO, Y.; ISEKI, K.; BAN, S.; ISHIYAMA, A.; HOKARI, R.; IWATSUKI, M.; OTOGURO, K.; OMURA, S.; HASHIMOTO, T.; NOJI, M.; UMEYAMA, A. *In Vitro* Antitrypanosomal Activity of the Secondary Metabolites from the Mutant Strain IU-3 of the Insect Pathogenic Fungus *Ophiocordyceps coccidiicola* NBRC 100683. **Chemical pharmaceutical bulletin**. n. 64, p. 988-990, Apr, 2016.

GARCIA M. O.; **Utilização de fungos entomopatogênicos para o controle de *Ortheziapraelonga* (STERNORRYNCHA: ORTEHZIIDAE).** 2004. 70 fl. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade de São Paulo, SP, 2004.

GASSEN, M.H. **Patogenicidade de fungos entomopatogênicos para o psílídeo da goiabeira *triozoída* sp. (Hemiptera: psyllidae) e compatibilidade de agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba sobre estes agentes de controle biológico.** 2006. 120 fl. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botocatu, SP, 2006.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa.** 4. ed. São Paulo: Atlas, p.131, 2002.

GOOGLE IMAGENS. Disponível em:
<https://www.slideshare.net/suprabhasanil/microbial-insecticides-62299392>. Acesso em: 2 set. 2017.

GOOGLE IMAGENS. Disponível em:
<http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Reinos/biofungos2.php>. Acesso em: 22 Ago. 2017.

HALL, R.A. The fungus *verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. In: BURGESS, H.D. (Ed) *Microbial Control of Pests and Plants Diseases 1970-1980*, **London: Academic Press**, p. 483-498, 1981.

HEINZE, S.; RITZAU, M.; IHN, W.; HULSMANN, H.; SCHLEGEL, B.; DORNBERGER, K.; FLECK, W. F.; ZERLIN, M.; CHRISTNER, C.; GRAFE, U.; KULLERTZ, G.; FISCHER, G.; Lipohexin, a new inhibitor of prolyl endopeptidase from *Moeszialindtneri* (HKI-00545) and *Paecilomyces* sp. (HKI-0055; HKI-0096). I. Screening, isolation and structure elucidation. **Journal of Antibiotics**. n. 50, p.379-383. 1997

ISAKA, M.; KITTA KOOP, P.; KIRTIKARA, K.; HYWEL-JONES, N. L.; THEBTARANONTH, Y. Bioactive substances from insect pathogenic fungi. **Acc. Chem. Res.** n. 38, p. 813-823, 2005

ISAKA, M.; PALASARN, S.; KOCHARIN, K.; HYWEL-JONES, N. L. Comparison of the Bioactive Secondary Metabolites from the Scale Insect Pathogens, Anamorph *Paecilomyces cinnamomeus*, and Teleomorph *Torrubiella luteoestrata*. **The journal antibiotics**, n. 60, p. 577-581, Sep. 2007.

ISAKA, M.; JONES, N. L. H.; SAPPAN, M.; MONGKOLSAMRIT, S.; SAIDAENGKHAM, S. Hopane triterpenes as chemotaxonomic markers for the scale insect pathogens *Hypocrella* s. lat. and *Aschersonia*. **British Mycological Society**. n. 3, p. 491-497, Jan, 2009.

ISAKA, M.; YANGCHUM, A.; RACHTAWEE, P.; KOMWIJIT, S.; LUTTHISUNGNEON, A. Hopane-Type Triterpenes and Binaphthopyrones from the Scale Insect Pathogenic Fungus *Aschersonia paraphysata* BCC 11964. **Journal of Natural Products**. n. 4, p. 688-692, Jan, 2010.

ISAKA, M.; PALASARN, S.; SUPOTHINA, S.; KOMWIJIT, S.; ARD, J. J. L. Bioactive Compounds from the Scale Insect Pathogenic Fungus

Conoideocrella tenuis BCC 18627. **Journal of natural products**. n. 74, p. 782-789, Apr, 2011.

ISAKA, M.; CHINTHANOM, P.; SUPOTHINA, S.; MONGKOLSAMRIT, S. Hopane triterpenes from the scale insect pathogenic fungus *Aschersonia calandulina* BCC 23276. **Phytochemistry Letters**, n. 5, p. 734-737, May, 2012.

ISAKA, M.; SAPPAN, M.; ARD, J. J. L.; JONES, N. L. H.; MONGKOLSAMRIT, S.; CHUNHAMETHA, S. Chemical taxonomy of *Torrubiella* s. lat.: zeorin as a marker of *Conoideocrella*. **British Mycological Society**. v. 5, p. 401-405, Feb, 2011.

ISHITANI, K.; SUZUKI, S.; SUZUKI, M. Antitumor activity of polygalactosamine isolated from *Paecilomyces* sp. I-I strain. **Journal of Pharmacobiodynamics**, n. 11, v.1, p. 58-65, 1988

JACKSON, M.A. Optimizing nutritional for the liquid culture production effective fungal biological control agents. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnonology**, v.19, p. 180-187, 1997.

JAY, J. M. Micotoxinas. In: **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Artmed, Porto Alegre, 2005.

JEWETT, M. C.; HOFMANN, G.; NIELSEN, J. Fungal metabolite analysis in genomics and phenomics. **Current Opinion in Biotechnonology**. v. 17, p. 191-197, 2007.

JOHSON, D.; SUNG, G. H.; JONES, N. L. H.; ARD, J. J. L.; BISCHOFF, J. F.; KEPLER, R. M.; SPATAFORA, J. W. Systematics and evolution of the genus *Torrubiella* (Hypocreales, Ascomycota). **British Mycological Society**. v. 3, p. 279-289, Oct, 2009.

JOYNER, P. M.; CICHEWICZ, R. H. Bringing natural products into the fold—exploring the therapeutic lead potential of secondary metabolites for the treatment of protein-misfolding-related neurodegenerative diseases. **Natural Prod Reports**. n. 28, v.1, p. 26-47, 2011.

JUSTO, O. R.; CALHEIROS, C. S.; PEREZ, V. H.; ALEGRE, R. M. Screening of *Metarhizium* spp. strains for anticancer indolizidine alkaloid production and its rapid detection by ms analysis. **Brazilian Journal of Micriobiology**, São Paulo, n.4, p. 780-784, Nov. 2007.

KELLER, N.P.; TURNER, G.; BENNET, J. **Fungal Secondary metabolism – from biochemistry to genomics** **Nature Reviews Mcrobiology**, n. 3, p.937-947, 2005.

KHALDI, N.; SEIFUDDIN, F. T.; TURNER, G.; HAFT, D.; NIERMAN, W. C.; WOLFE, K. H.; FEDOROVA, N. D. SMURF. Genomic mapping of fungal secondary metabolites clusters. **Fungal Genetics and Biology**. v. 47, p. 736-741, 2010.

KIKUCHI, H.; MIYAGAWA, Y.; SAHASHI, Y.; INATOMI, S.; HAGANUMA, A.; NAKAHATA, N.; OSHIMA, Y. Novel trichotechnanes paecilomicines A, B and C,

isolated from entomopathogenic fungus *Paecilomyces tenuipes*. **Tetrahedron Letters**. v. 45, p. 6225-6228, 2004.

KIKUCHI, H.; HOSHI, T.; KITAYAMA, M.; SEKIYA, M.; KATOU, Y.; UEDA, K.; KUBOHARA, Y.; SATO, H.; SHIMAZU, M.; KURATA, S.; OSHIMA, Y. New diterpene pyrone-type compounds, metarhizins A and B, isolated from entomopathogenic fungus, *Metarhizium flavoviride* and their inhibitory effects on cellular proliferation. **Tetrahedron**. n. 65, p. 469-477, Nov, 2008.

KIRK, P.M.; CANNON, P.F.; DAVID, J.C.; STALPERS, J.A. **Dictionary of the fungi**, 11^a ed. Wallingford: CABI Publishing, 2008.

KORNSAKULKARN, J.; SAEPUA, J.; SRICHOMTHONG, K.; SUPOTHINA, S.; THONGPANCHANG, C. New mycotoxins from the scale insect fungus *Aschersonia coffeae* Henn. BCC 28712. **Tetrahedron**, n. 68, p. 8480-8486, Jul, 2012.

KORNSAKULKARN, J.; SAEPUA, S.; LAKSANACHAROEN, P.; RACHTAWEE, P.; THONGPANCHANG, C. Chaetone G, a new dibenzo[b,e]oxepinone from the insect pathogenic fungus *Aschersonia luteola* BCC 31749. **Tetrahedron Letters**, n. 57, p. 305-307, Dez, 2015.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C.; HEINS-V, E. M.; MELO, N.T. **Tratado de micologia médica**. 9ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LEITE, L.G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; ALVES, S.B. **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: Alexandre de Sene Pinto, 92p, 2003.

LIMA, E. L. O.; **Produção de *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. E *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. em diferentes substratos e efeito da radiação ultravioleta e da temperatura sobre estruturas infectivas desses entomopatógenos**. 2007. 103 fl. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botocatu, SP, 2007.

LIMA, I. G. P. **Transformação genética dos fungos entomopatogênicos *Paecilomyces fumosoroseus* e *Paecilomyces tenuipes***. 2005, 114 fl. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia molecular) – Universidade Estadual de Londrina, PR, 2005.

LI, C. Y.; LO, I. W.; WANG, S.W.; HWANG, T. L.; CHUNG, Y. M.; CHENG, Y. B.; TSENG, S. P.; LIU, Y. H.; HSU, Y. M.; CHEN, S. R.; HU, H. C.; CHANG, F. R.; WU, Y. C. Novel 11-norbetaenone isolated from an entomopathogenic fungus *Lecanicillium antillanum*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, n. 27. p. 1978-1982, Mar, 2017.

LIU, L.; ZHANG, J.; CHEN, C.; TENG, J.; WANG, C.; LUO, D. Structure and biosynthesis of fumosorinone, a new protein tyrosine phosphatase 1B inhibitor firstly isolated from the entomogenous fungus *Isaria fumosorosea*. **Fungal Genetics and Biology**, n. 81, p. 191-200, Abr, 2015.

- LOBO, L. S.; LUZ, C.; FERNANDES E. K. K.; JUARES, M. P.; PEDRINI, N. Assessing gene expression during pathogenesis: Use of qRT-PCR to follow toxin production in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* during infection and immune response of the insect host *Triatoma infestans*. **Journal of invertebrate Pathology**. v. 128, p. 14-21, 2015.
- LOPES, F. C. **Produção e análise de metabólitos secundários de fungos filamentosos**. 2011. 130 fl. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, 2011.
- LOPES, R. S. **Patogenicidade de *Paecilomyces farinosus* sobre *Coptotermes gestroie* parâmetros biológicos**. 2007. 71 fl. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, PE, 2007.
- LOPEZ, P. M.; RODRIGUEZ, G. D.; LOERA O. Production of conidia of *Beauveria bassiana* in solid-state culture: current status and future perspectives. **Crit Rev Biotechnol**. n. 35, v.3, p. 334-341, 2015.
- MACHADO. A. C. R. **Produção de *Lecanicillium lecanii* em meios líquidos, sólidos e combinados em sistema bifásico de cultivo**. 2008. 81 fl. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Universidade Estadual Paulista, SP, 2008.
- MACORIS, Severino Assis; ARANTES Thales; ALQUATI Luiz. **Aspectos gerais da caracterização macroscópica e microscópica das colônias fúngicas**. IBB/UNESP, 2012. Disponível em: <<http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/ApostilaMicrobiologia-Medicina-2012.pdf>> Acesso em: 16 julho 2016.
- MARTÍN, J. F.; CASQUEIRO, J.; LIRAS, P. Secretion systems for secondary metabolites: how producer cells send out messages of intercellular communication. **Current Opinion in Microbiology**. v. 8, p. 282-293, 2005.
- MILNER, R.J, **Prospects for biopesticides for aphid control**. Entomophaga, Paris, v.42, n.2, p. 227-239, 1997.
- MOLNAR, I., GIBSON, D. M., KRASNOFF, S.B..Secondary metabolites from entomopathogenic hypocrealean fungi. **Nat. Prod**. n.13, p.1241-1275, 2010.
- MORI, Y.; TSUBOI, M.; SUZUKI, M.; FUKUSHIMA, K.; ARAI, T. Isolation of leucinostatin A and one of its constituents, the new amino acid 4-methyl-6-(2-oxobutyl)-2-piperidinecarboxylic acid, from *Paecilomyces lilacinus* A-267. **Journal of Antibiotics**, n. 35, v. 4, p. 543-544, (Tokyo) 1982.
- NEMR, A.E. Synthetic Methods for the Stereoisomers of Swainsonine and its Analogues. **Tetrahedron** n. 56, p. 8579-8629, 2000.
- NIGAM, P.S. **Production of bioactive secondary metabolites**. In: Nigam, P. S.; Pandey, A. Biotechnology for Agro-industrial Residues Utilization, Springer Science + Business Media, 2009.

OLIVEIRA, I. M. **Aspectos biológicos do fungo entomopatogênico *Aschersonia* sp. Cultivado em diferentes meios de cultura**. 2008. 57 fl. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, MG, 2008.

PANACCIONE, D. G.; ANNIS, L. S. **Significance of fungal peptide secondary metabolites in the agri-food industry**. *Applied Mycology and Biotechnology*. v. 1, p. 115-143, 2001.

PATOCKA, J. Bioactive metabolites of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*. **Military Medical Science Letters**. V. 85, n. 2, p 80-88, Jun, 2016.

PEDRAS, M.S.C., IRINA ZAHARIA, L., WARD, D.E. **The destruxins; synthesis, biosynthesis, biotransformation, and biological activity, phytochemistry**. n. 59, p. 579-596, 2002.

PUBCHEM. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 12 Fev. 2018.

PETERSEN, F.; FREDENHAGEN, A.; METT, H.; LYDON, N. B.; DELMENDO, R.; JENNY, H. B.; PETER, H. H. Paecilquinones A, B, C, D, E and F: new potent inhibitors of protein tyrosine kinases produced by *Paecilomyces carneus* I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activity. **Journal of Antibiotics**. v.3, p.191-198, 1995

PINTO, A.C. et al. Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. **Química Nova**. v. 25, supl. 1, p. 45-61, 2002.

POGETTO, M.H.F.A.D. **Avaliação de produtos comerciais de fungos entomopatogênicos no controle do psilideo de concha *Glycaspisbrimblecombei* (Hemiptera: psyllidae)**. 2009. 97 fl. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botocatu, SP, 2009.

RADICS, L.; KAJTAR, P. M.; CASINOVI, C. G.; ROSSI, C.; RICCI, M.; TUTTOBELLO, L. Leucinostatin H and K, two novel peptide antibiotics with tertiary amine-oxide terminal group from *Paecilomyces marquandii* isolation, structure and biological activity. **Journal of Antibiotics**. v.5, p. 714-716 1987

RAVEN, P. H.; EVERT, R.F & EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal**. 7ª. Ed. Coord. Trad. J.E Kraus. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2007.

RAVIDRAN, K.; AKUTSE, K. S.; SIVARAMAKRISHNAN, S.; WANG, L. Determination and characterization of destruxin production in *Metarhizium anisopliae* Tk6 and formulations for *Aedes aegypti* mosquitoes control at the field level. **Toxicon**. n. 120, p. 89-96, Jul, 2016.

ROBERTS, D. W.; KRASNOFF, S. B. Toxinas e enzimas de fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2º Ed. Piracicaba, Fealq. p. 967-985, 1998.

ROMMINGER, S.; **Avaliação do potencial metabólico de linhagens de fungos isolados de uma espécie de alga marinho gênero *sargassum***. 2008. 69 fl. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade São Paulo, SP, 2008.

ROJAS, V. M. A. **Caracterização do fungo entomopatogênico *Isaria fumosorosea* quanto à produção de conídios, efeitos da radiação ultravioleta-B, temperatura alta e persistência em formulações do tipo dispersão oleosa**. 2015. 99 fl. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade de São Paulo, SP, 2015.

ROSSI, C.; TUTTOBELLO, L.; RICCI, M.; CASINOVI, C.G.; RADICS, L. Leucinoistatin D, a novel peptide antibiotic from *Paecilomyces marquandii*. **Journal of Antibiotics**. v.1, p.130-133, 1987.

ROZALSKA, S.; SOBON, A.; PAWLOWSKA, J.; WRZOSEK, M.; DŁUGONSKI, J. Biodegradation of nonylphenol by a novel entomopathogenic *Metarhizium robertsii* strain. **Bioresource Technology**. n. 191, p. 166-172, May, 2015.

ROY, H.E. The ecology of fungal entomopathogenic. In: **Understanding of the ecology of fungal entomopathogens**. Springer, Dordrecht, p. 2, 2010.

SAEPUA, B.; KORNSAKULKARN, J.; CHOOWONG, W.; SUPOTHINA, S.; THONGPANCHANG, C. **Bioxanthracenes and monomeric analogues from insect pathogenic fungus *Conoideocrella luteorostrata* Zimm. BCC 31648**. Tetrahedron, v. 71, p. 2400-2408, Feb, 2015.

SANTOS, C. J. G. dos. Tipos de pesquisa. Disponível em: <http://www.oficinadapesquisa.com.br/APOSTILAS/METODOL/OF.TIPOS_PESQUISA.PDF>. Acesso em: 13 set. 2017.

SÁNCHEZ, P., MORILLO, F., CAETANO, F., ITURRIAGA, T., GUERRA, J. MUÑOZ, W. **Detección de hongos entomopatógenos del género *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833(Ascomycotina: Pyrenomycetes) sobre hormigas del género *Camponotus* Mayr, 1861 (Hymenoptera: Formicidae) en plantaciones de cacao de Barlovento, estado Miranda, Venezuela**. Entomotropica v. 2, p. 191-195, 2002.

SHAPSHAK, P.; SOMBOONWIT, C.; FOLEY B. T.; ALRABAA S. F.; WILLS T, SINNOTT, J. T. Zika Virus. In: **Global Virology I-Identifying and Investigating Viral Diseases**. Springer New York, p. 477-500, 2015.

SCHMIDT, K., LI, Z., SCHUBERT, B., STOYANOVA, S., HAMBURGER, M. Screening of entomopathogenic detromycetes for activities on targets involved in degenerative diseases of the central nervous system. **J. Ethnopharmacol**, n. 89, p. 251-26, 2003.

SCOCCIA, J.; CASTRO, J.; FARAONI, M, B.; BOUZAT, C.; MARTIN, V, S.; GERBINO, D, C. **Efficient synthesis and biological evaluation of dibenzo[b,e]oxepin-11(6H)-ones as potential anthelmintic agents**. Conference Paper: The 20th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry p. 1-12, Nov, 2016.

SHAH, P.A; PELL, J.K. **Entomopathogenic fungi as biological control**. *Applied microbiology and biotechnology*. v.61, p.413-423, 2003.

SHAPSHAK, P.; SOMBOONWIT, C.; FOLEY, B. T.; ALRABAA, S. F.; WILLS T, SINNOTT, J. T. Zika Virus. In Global Virology I-Identifying and Investigating Viral Diseases. **Springer New York**. p.477-500, 2015.

SOPER, R.S.; WARD, M.G. Production, formulation and application of fungi for insect control. In: PAPAIVIZAS, C.G. (Ed.) **Biological Control in Crop Production**. p.161-180, 1981.

SOUZA, C. R. **Perspectivas de utilização do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* para controle microbiológico de formigas cortadeiras**. 2012. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

SILVA, C.J.A., MALTA, D. J. N. A importância dos fungos na biotecnologia. **Caderno de graduação**, v. 1, p. 1-18, 2016. Disponível em: <<http://periodicos.set.edu.br>>. Acesso em: 18 Jul. 2017.

TAKAHASHI, J.A; LUCAS, E.M.F. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. **Química nova**. Belo Horizonte- MG. n.7, p. 1807-1813, set. 2008.

TAKAHASHI, S.; KARINUMA, N.; UCHIDA, K.; HASHIMOTO, R.; YANAGISAWA, T.; NAKAGAWA, A.; Pyridovericin and pyridomacrolidin: novel metabolites from entomopathogenic fungi, *Beauveria Bassiana*. **Journal Antibiotics**. v. 51, p. 596-598, jun. 1998.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 10. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. E-Book. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536326986/cfi/0!4/2@100:0.00>>. Acesso em: 16 jul. 2017.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002.

UCHIDA, R.; SHIOMI, K.; INOKOSHI, J.; MASUMA, R.; KAWAKUBO, T.; TANAKA, H.; IWAI, Y.; OMURA, S. Kurasoins A and B, new protein farnesyltransferase inhibitors produced by *Paecilomyces* sp. FO-3684. I. Producing strain, fermentation, isolation and biological activities. **Journal of Antibiotics**. v.9, p. 932-934, 1996.

VALLE, T.L. **Influência da qualidade da luz no crescimento e esporulação do *Metahrizium anisopliae***. 1984. 78 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Faculdade de São Paulo, Piracicaba.

VEGA, F.E., MEYLING, N.V., LUANGSA-ARD, J.J., BLACKWELL, M., 2012. **Fungal entomopathogens**, In: Veja, F.E., Kaya, H.K (Eds) ,Insect pathoolgy, second edition. Academicpress, p. 171-220, 2012.

WANG, Q., XU, L. Beauvericin, a bioactive compound produced by fungi; a short review. **Molecules**. n.17, p. 2367-2377, Feb, 2012.

WANG, Z.; CHEN, S.; SANG, X.; PAN, H.; LI, Z.; HUA, H.; HAN, A.; BAI, J. Lecanicillolide, an a-pyrone substituted spiciferone from the fungus Lecanicillium sp. PR-M-3. **Tetrahedron Letters**. n. 58, p. 740-743, Jan, 2017.

WENZEL, I. M. **Patogenicidade de *LecanilliumLecanii*(ZIMM) Zare&Gams ao ácaro rajado *Tetranychusurticae* (Acari:Tetranychidae) e sua compatibilidade a agrotóxicos e organismos biocontroladores utilizados na cultura do crisântemo**. 2005. 87 fl. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botocatu, SP, 2005.

ZARE, R.; GAMS, W. **A revision of verticillium section and simplicillium gen.** nov.Nova Hedwigia.Stturgart. v. 73, n. 1-2, p. 1-50, 2001.

ZEINER, C. A.; PURVINE, S. O.; ZINK, E. M.; PASA, T. L.; CHAPUT, D. L.; HARIDAS, S.; WU, S.; LABUTTI, K.; GRIGORIEV, IV.; HENRISSAT, B.; SANTELLI, C. M.; HANSEL, C. M. Comparative Analysis of Secretome Profiles of Manganese(II)-Oxidizing Ascomycete Fungi. **The fungal genomics resources**. v. 7, p. 1-10, Jul, 2016.