

Metabólitos Secundários de Interesse Farmacêutico Produzidos por Fungos Endofíticos

Secondary Metabolites Produced by Endophytic Fungi of Pharmaceutical Interest

Vânia Specian^a; Ravely Casarotti Orlandelli^a; Aretusa Cristina Felber^a; João Lúcio Azevedo^a; João Alencar Pamphile^{a*}

^aUniversidade Estadual de Maringá, Departamento de Biotecnologia, Biologia Celular e Genética, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada, PR, Brasil

*E-mail: prof.pamphile@gmail.com

Recebido: 14 de janeiro de 2014; Aceito: 14 de março de 2014

Resumo

Fungos endofíticos são grandes produtores de metabólitos secundários. No entanto, essa produção ainda não foi estimada, mas sabe-se que 80% dos fungos endofíticos estudados produzem metabólitos ativos, influenciados por condições ambientais, parâmetros de fermentação, tempo, temperatura, pH e nutrientes. Esses compostos são agrupados em diversas classes, e se apresentam tóxicos e até mesmo letais frente a outros microrganismos. Essas classes de compostos possuem atividades hormonais, antibióticas, antitumorais, antifúngicas, citotóxicas, antivirais, imunossupressoras, antiparasitárias, entre outras. Os produtos naturais obtidos de endófitos incluem principalmente alcalóides, esteróides, terpenóides, isocumarinas, quinonas, fenilpropanóides, ligninas, fenóis e ácidos fenólicos, metabólitos alifáticos, lactonas, citocatalasinas, flavonóides, peptídeos e xantonas. Considerando que os endófitos ainda são pouco estudados, especialmente em espécies tropicais, eles surgem como fonte de novos produtos para a incorporação de medicamentos e como forma de preservação de plantas medicinais. Salienta-se que a produção de metabólitos fúngicos realizada *in vitro* apresenta um menor custo e melhor otimização, bem como os microrganismos serem fontes facilmente renováveis e reprodutíveis quando comparadas com outras fontes naturais como plantas e animais. Várias técnicas têm sido utilizadas para aprimorar a utilização de microrganismos para a produção de novos princípios ativos, reunindo o conhecimento em química, bioquímica, microbiologia e biologia molecular. Este trabalho tem como objetivo mostrar a diversidade de produtos metabolicamente ativos produzidos por fungos endofíticos, assim como seu potencial farmacológico.

Palavras-chave: Indústria Farmacêutica. Endófitos. Fungos.

Abstract

Endophytes are large producing secondary metabolites. Although the production has not yet been estimated, it is known that 80% of endophytic fungi studied produce active metabolites, influenced by environmental conditions, fermentation parameters, time, temperature, nutrients and pH. These compounds are grouped into several classes, which are toxic and even lethal against other microorganisms. These classes of metabolites have hormonal, antibiotic, antitumor, antifungal, cytotoxic, antiviral, immunosuppressive, and antiparasitic activities. The products obtained from natural endophyte mainly include alkaloids, steroids, terpenes, isocumarins, quinones, phenylpropanoids, lignins, phenols and phenolic acids, aliphatic metabolites, lactones cytocatalasins, flavonoids, peptides and xanthones. Whereas the endophytes are still poorly studied, particularly in tropical species, they appear as a source of new products for the incorporation in drugs and as a means of preservation of medicinal plants. It is noted that the production of fungal metabolites performed in vitro has a lower cost and a better optimization. In addition, microorganisms are easily renewable and reproducible sources when compared with other natural sources such as plants and animals. Several techniques have been used to enhance the use of microorganisms for production of new active metabolites, gathering knowledge in chemistry, biochemistry, microbiology and molecular biology. This study aims to show the diversity of products produced by metabolically active endophytes as well as their pharmacological potential.

Keywords: Drug Industry. Endophytes. Fungi.

1 Introdução

A natureza fornece uma enorme variação de moléculas extremamente complexas, mais sofisticadas do que qualquer molécula obtida de forma sintética ou por meio de combinações químicas¹. A alta diversidade química em produtos naturais está relacionada com a disponibilidade de precursores e reações biossintéticas, além de sua função no sistema biológico².

Os metabólitos secundários são compostos extracelulares secretados no meio de cultura, durante o crescimento e diferenciação de um organismo vivo e têm sido isolados e caracterizados principalmente para fins industriais³⁻⁶. Os

fungos filamentosos também são conhecidos por biossintetizar uma quantidade fantástica de metabólitos secundários, chegando a uma produção de até 73% superior a de outras classes de microrganismos³.

O primeiro metabólito fúngico eficaz foi a penicilina, produzida pelo fungo *Penicillium chrysogenum* e descoberta por Fleming em 1928, sendo também o primeiro medicamento produzido em larga escala já na década de 40⁷. A contribuição dos produtos naturais na medicina ao longo dos anos é bem evidente, e a obtenção de moléculas que contemplem diversas classes químicas ilustra seu potencial no tratamento de doenças². Atualmente, os fungos estão envolvidos no

processamento industrial de mais de 10 dos 20 produtos mais rentáveis no início deste século⁸.

Os microrganismos são fontes facilmente renováveis e reprodutíveis quando comparadas com outras fontes naturais como plantas e animais. Em torno de 130 fármacos utilizados comumente são de origem microbiana e tantos outros estão em fase de desenvolvimento clínico⁹. Entre os fármacos provenientes de microrganismos que abastecem a indústria farmacêutica estão os antibacterianos, penicilinas, cefalosporinas, ácido clavulânico, carbapeninas e monobactamas, tetraciclina, aminoglicosídeos, entre outros¹⁰.

Esta revisão tem por objetivo evidenciar a importância dos endófitos na produção de metabólitos secundários, demonstrando o seu potencial na fabricação e desenvolvimento de novas drogas que podem contribuir para o enriquecimento financeiro e tecnológico da indústria farmacêutica.

2 Desenvolvimento

Para essa revisão, foi realizada uma busca detalhada de artigos relacionados ao tema, publicados até o ano de 2012, na base de dados Web of Science, Scopus, Scielo, Science Direct e no portal de periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), complementada com livros de referências e dissertações. Foram utilizadas como palavras-chaves: endofíticos, metabólitos secundários, aplicações farmacêuticas.

2.1 Metabólitos secundários produzidos por fungos endofíticos

Um grupo de microrganismos que tem se destacado nas últimas décadas pela produção de metabólitos bioativos é o dos endófitos, especialmente os fungos, que representam uma importante fonte genética para a biotecnologia. Esses microrganismos têm estimulado o interesse da comunidade científica, devido à produção de metabólitos secundários com aplicações biotecnológicas na indústria alimentícia e farmacêutica¹¹.

Estima-se a existência de aproximadamente 1,5 milhões de espécies de fungos, dos quais apenas 5% estão descritos¹². Se considerarmos que das 300 mil espécies de plantas que existem na terra, cada uma hospede, no interior de seus tecidos, um ou mais fungos endofíticos, são grandes as chances de se encontrar novos microrganismos dentre as milhares de plantas nos diferentes ecossistemas terrestres e aquáticos, constituindo-se numa fonte rica em diversidade genética e, possivelmente, de novos produtos naturais¹¹.

Os fungos endofíticos colonizam o interior das plantas sem causar-lhes danos, sendo encontrados em órgãos e tecidos vegetais como folhas e ramos¹³. Quase todas as plantas possuem microrganismos endofíticos, podendo abrigar vários deles, mas em geral existem espécies que são mais frequentemente encontradas em um determinado hospedeiro e, por isso, são chamadas de espécies dominantes, contrapondo-se às raras ou secundárias¹⁴.

Os mecanismos envolvidos na relação endófito-planta não são bem compreendidos, porém sabe-se que as interações podem ser simbióticas, neutras ou antagonicas. Nas interações simbióticas, os microrganismos produzem ou induzem a produção de metabólitos primários e secundários, que podem conferir diversas vantagens à planta, como o aumento da tolerância a estresses abióticos, diminuição do ataque de herbívoros e insetos e controle de outros microrganismos¹⁵. Em contrapartida, a planta garante ao endófito os nutrientes necessários à sua sobrevivência, abrigo e transferência às próximas gerações¹⁰.

Alguns endófitos produzem substâncias químicas caracterizadas originalmente da planta hospedeira. Essa capacidade pode estar relacionada a uma “recombinação genética” do endófito com a planta, que acontece durante o processo de evolução⁴. Em algum momento durante essa co-evolução, pode ter ocorrido uma transferência horizontal de genes, o que permitiu que o receptor executasse as mesmas reações biossintéticas do doador¹⁶. A habilidade do endófito em produzir o mesmo metabólito bioativo que sua planta hospedeira pode reduzir a coleta de plantas raras, de crescimento reduzido e ameaçadas de extinção, preservando-se, assim, a biodiversidade¹⁷.

Muitas propriedades medicinais de certas plantas podem estar relacionadas com metabólitos produzidos por endófitos¹⁸. Questiona-se sobre os fitoquímicos bioativos das plantas serem produzidos exclusivamente por estas ou como resultado da relação mutualística com o microrganismo¹⁹, sendo uma consequência da biossíntese concomitante da planta e do fungo²⁰. Assim, sugere-se que as propriedades terapêuticas de uma planta medicinal podem estar na interação entre ambos²¹.

As várias classes de moléculas produzidas por fungos endofíticos podem possuir atividades hormonais, antibióticas, antitumorais¹³, antifúngicas, citotóxicas¹⁰, antivirais, imunossupressoras, antiparasitárias, entre outras²². Os produtos naturais obtidos de endófitos incluem principalmente alcalóides, esteróides, terpenóides, isocumarinas, quinonas, fenilpropanóides, ligninas, fenóis e ácidos fenólicos, metabólitos alifáticos, lactonas, citocatalasinas, flavonóides, peptídeos e xantonas^{16,23,24}.

A variedade de metabólitos secundários produzidos por um único endófito ainda não foi estimada, mas avalia-se que seja alta, devido à versatilidade e facilidade de adaptação dos fungos¹⁸. Alguns isolados endofíticos possuem a capacidade de produzir diferentes substâncias, como os compostos orgânicos voláteis bioativos (VOCs), que podem atuar com outras classes de compostos, sendo letais para outros microrganismos, como os patógenos e as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas²⁵.

Várias técnicas, reunindo conhecimentos em química, bioquímica, microbiologia e biologia molecular, têm sido utilizadas para aprimorar o uso de microrganismos no isolamento de novos princípios ativos. Os microrganismos

cultiváveis são uma excelente fonte de moléculas com atividades biológicas, e responsáveis por 10% de todos os produtos naturais bioativos conhecidos. No entanto, apenas 1% dos microrganismos existentes é cultivável em laboratório²⁶.

Dessa forma, a metagenômica, biossíntese combinatória e exploração genômica, vêm colaborar para o aumento no número de microrganismos cultiváveis. Técnicas como a de isolamento de metagenoma permitem que o DNA da comunidade microbiana seja extraído do ambiente, expresso em hospedeiros como *Escherichia coli* e codificado a fim de produzir novos produtos naturais²⁶.

A biossíntese combinatória utiliza a engenharia genética de vias biossintéticas naturais por meio do metabolismo de cada organismo, produzindo novos compostos, e combina expressões e deleções de genes por meio de vetores, gerando variações na estrutura dos compostos produzidos²⁷.

Quando um metabólito microbiano é considerado candidato a uma nova droga, sua produção pode ser realizada em maior escala, utilizando-se a manipulação de parâmetros do processo fermentativo para a expressão dos metabólitos, visando o aperfeiçoamento do seu rendimento⁸. O aumento na produção desses compostos também pode ser alcançado, submetendo-se a linhagem do microrganismo a programas de melhoramento²⁸. Pode-se isolar mutantes mais facilmente cultiváveis, que gerem produtos adicionais ou produtos modificados com maior índice terapêutico²⁹.

A fermentação microbiana como meio de produção de substâncias bioativas tem várias vantagens, como a possibilidade de reprodução e produtividade segura, já que o microrganismo cultivado em tanques de fermentação se torna uma fonte potencialmente inesgotável. O aumento na produção é relativamente fácil, sendo que mudanças nas condições de cultura podem ser exploradas, a fim de se otimizar as várias vias biossintéticas que podem levar à produção de compostos ainda mais eficazes. Além disso, microrganismos respondem favoravelmente à técnicas rotineiras de cultura, enquanto culturas de tecidos ou o crescimento das plantas requerem técnicas especializadas ou meses de crescimento antes da coleta⁸.

A biotransformação microbiana é um método alternativo para obtenção de compostos bioativos³⁰ que utiliza sistemas biológicos enzimáticos para produzir alterações químicas em compostos que não são os seus substratos naturais³¹. Uma molécula pode ser modificada por meio da transformação de grupos funcionais, resultando na formação de produtos novos e úteis que não são facilmente obtidos por métodos químicos³². A utilização dos microrganismos nesse processo se deve à sua capacidade ilimitada de adaptação a novos ambientes e metabolização de diversos substratos³³.

O processo de biotransformação fornece vantagens sobre a síntese química, pois pode ser realizado em temperatura ambiente e sem a necessidade de alta pressão e condições extremas, reduzindo-se, assim, subprodutos indesejados, necessidades energéticas e custos³⁴. As etapas de purificação e

separação dos produtos podem ser eliminadas, já que a estereoseletividade do processo permite a produção de compostos enantiomericamente puros³¹. Além disso, as reações ocorrem em condições ecologicamente aceitáveis, com menor emissão de detritos industriais e produção de compostos e resíduos biodegradáveis³⁵.

Uma vez que os metabólitos secundários são sintetizados por vários caminhos e também por espécies geneticamente distintas, além das condições ambientais, parâmetros de fermentação como tempo, temperatura, pH e nutrientes podem influenciar na produção destes metabólitos³⁶. Na natureza, a síntese de metabólitos é influenciada por fatores bióticos e abióticos e está intimamente relacionada com a fisiologia do hospedeiro, já que a maioria dos endófitos coloniza os espaços apoplásticos entre as células vegetais. Assim, fatores ambientais como a disponibilidade de água, nutrientes e salinidade podem levar a uma alteração do ambiente em torno dos microrganismos, levando-os a adaptar-se para sobreviver nas novas condições. Tal ajuste, geralmente, leva à produção de compostos que auxiliam nessa adaptação¹⁸.

2.2 Aplicação farmacêutica dos metabólitos secundários

Os fungos endofíticos são frequentes fontes de produtos naturais que podem agir como antibióticos, inibindo ou matando uma variedade de agentes causadores de doenças nocivas, como bactérias, fungos, vírus e protozoários que afetam humanos e animais¹¹. Além de antibióticos, diversos fármacos de alto valor agregado podem ser produzidos a partir de microrganismos endofíticos, extraídos de uma pequena porção de tecido vegetal, mantendo assim, a produção de compostos vitais para pessoas afetadas por inúmeras doenças^{13,37}.

A utilização de metabólitos de endófitos na indústria farmacêutica tornou-se evidente no século 20, com a descoberta da produção do diterpenóide taxol pelo fungo endofítico *Taxomyces andreanea*. Esse composto antitumoral com atividade citotóxica e de alto valor internacional foi originalmente encontrado e extraído de espécies vegetais do gênero *Taxus*¹⁷. Com essa descoberta, tornou-se possível a produção desse importante fármaco de maneira mais eficiente e menos dispendiosa, minimizando a ameaça de extinção de algumas espécies vegetais coletadas para a extração deste composto e seus precursores¹³. Atualmente, esse fármaco que interfere na multiplicação de células cancerosas, reduzindo ou interrompendo o seu crescimento e disseminação, já é utilizado para o tratamento do câncer de mama, pulmão e ovário³⁸.

Li *et al.*³⁹ isolaram e elucidaram a estrutura da citocalasina H2 ao trabalharem com o fungo *Xylaria* sp isolado de *Annona squamosa* L. As citocalasinas apresentam atividade citotóxica e influenciam no efeito dos filamentos de actina. A citocalasina H foi isolada pela primeira vez em 1970 a partir de *Phomopsis* sp. Três novas citocalasinas também foram obtidas a partir do fungo endofítico *Rhinochadiella* sp., associado à planta

Tripterygium wilfordii. O extrato desse endófito exibiu potente atividade contra três linhagens de células tumorais humanas: A2780s (câncer de ovário), SW-620 (câncer de cólon) e HCT-116 (câncer de cólon)⁴⁰.

Outro importante composto com atividade anticancerígena é o alcalóide camptotecina. Esse potente agente antineoplásico foi primeiramente isolado na China, a partir da madeira de *Camptotheca acuminata* Decaisne⁴¹, e já pode ser obtido a partir do fungo endofítico *Fusarium solani*, associado à *Camptotheca acuminata*⁴².

Xue *et al.*⁴³ extraíram e elucidaram a estrutura de oito tipos de compostos, sendo eles a ciclopentadiona, dicetopiperanzina, lactona, benzofenol, terpeno, antraquinona, éter difenil e alcalóide do endofítico *Aspergillus* sp. CM9a, isolado de *Cephalotaxus mannii*.

Segundo Schulz *et al.*⁵, 80% dos fungos endofíticos estudados produzem compostos biologicamente ativos em testes antibacterianos e antifúngicos ou como herbicidas. Isso demonstra a importância do estudo desses microrganismos, a fim de buscar metabólitos capazes de combater infecções causadas por patógenos, e que possam ser utilizados na indústria farmacêutica.

Diversos agentes bioativos com atividade antimicrobiana têm sido isolados de endófitos, como o composto sordaricina, que possui atividade antifúngica contra *Cândida albicans* e foi obtido a partir do gênero *Xylaria*, residente em diferentes plantas hospedeiras⁴⁴. Também a coronamicina, um antibiótico peptídico produzido pelo fungo endofítico *Streptomyces* sp., isolado a partir de *Monstera* sp., é ativa contra os fungos pitiáceos, o fungo patogênico humano *Cryptococcus neoformans* e o parasita da malária, *Plasmodium falciparum*⁴⁵. Já o policetídeo citrinina, obtido do fungo endofítico *Penicillium janthinellum* a partir de frutos de *Melia azedarach*, apresentou 100% de atividade bactericida contra *Leishmania* sp.⁴⁶.

Souza *et al.*⁴⁷ avaliaram a atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados das plantas tóxicas da Amazônia *Palicourea longiflora* e *Strychnos cogens*. Dos metabólitos obtidos de 79 linhagens de fungos endofíticos selecionadas para os ensaios *in vitro*, 19 (24,05%) apresentaram ação contra um ou mais microrganismos testados (*Aspergillus flavus*, *Bacillus* sp., *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Trichoderma* sp.).

O fungo *Muscodor albus*, isolado do caule de *Cinnamomum zeylanicum*, apresentou atividade fungicida e bactericida contra diversos microrganismos por meio de uma mistura de seus metabólitos⁴⁸.

Fernandes *et al.*⁴⁹ isolaram 22 linhagens de fungos endofíticos a partir de folhas de *Coffea arabica* L., onde todos os extratos brutos dos fungos inibiram pelo menos um dos microrganismos estudados. Os extratos de *Alternaria alternata* apresentaram um melhor rendimento, inibindo três microrganismos patogênicos, com uma zona de inibição de 16 mm para *C. albicans* e 27 mm para *S. Aureus*.

Já Hormazabal e Piontelli⁵⁰ mostraram que entre os fungos endofíticos isolados de gimnospermas nativas do Chile, o metabólito produzido pelo fungo *Curvularia protuberata* teve o melhor efeito sobre o *B. subtilis*, *Micrococcus luteus* e *S. aureus*, com zonas de inibição de crescimento de 12, 9 e 16 mm, respectivamente.

Ramasamy *et al.*⁵¹ isolaram 348 fungos endofíticos de 24 plantas medicinais da Malásia e obtiveram seus extratos metabólicos, verificando que 16% foram eficientes contra *B. subtilis* e entre 1 a 2% inibiram *M. luteus*, *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*, com áreas de inibição variando de 8 a 24 mm.

O fungo endofítico *Phomopsis* sp., isolado de folhas de *Aspidosperma tomentosum* e pecíolos da planta medicinal *Spondias mombin*, apresentou grande potencial como fonte de produtos bioativos. Testes com seus extratos inibiram o crescimento de bactérias, leveduras e fungos filamentosos⁵².

Khan *et al.*⁵³ isolaram o composto brefeldina A a partir do fungo endofítico *Paraconiothyrium* sp. Esse metabólito possui diversas atividades bioativas importantes, incluindo propriedades antifúngicas, antivirais e anticancerígenas, e pode também ser utilizado em manejo de plantas daninhas.

O potencial para a descoberta de compostos de origem endofítica com atividade antiviral ainda é principiante. A maior limitação para a descoberta de moléculas antivirais está provavelmente relacionada à ausência de um sistema efetivo de triagem antiviral⁵⁴. No entanto, alguns metabólitos encontrados têm sido promissores, como o composto pestaloteol C, que apresentou propriedades anti-HIV e foi produzido pelo fungo endofítico *Pestalotiopsis theae*, isolado de uma árvore não identificada na montanha chinesa Jianfeng⁵⁵.

Microrganismos endofíticos também são capazes de produzir compostos com atividade antioxidante. Duas substâncias bioativas, a pestacina e a isopestacina, foram isoladas de extratos de *Pestalotiopsis microspora*, um fungo endofítico da planta *Terminalia morobensis* de Papua-Nova Guiné, e ambas exibiram atividade antimicrobiana e antioxidante⁵⁶.

A partir dos extratos de um fungo endofítico pertencente ao gênero *Cephalosporium*, isolado de *Trachelospermum jasminoides*, foi possível obter a substância grafislactona A, um metabólito fenólico com forte atividade antioxidante e de conversão dos radicais livres³⁰.

Resultados de testes com metabólitos podem levar à novas terapias para o diabetes. Um metabólito fúngico não peptídico (L-783, 281) foi isolado do endofítico *Pseudomassaria* sp., coletado em uma floresta na República Democrática do Congo. A administração oral de L-783, 281 a dois ratos modelos para diabetes reduziu significativamente os níveis de glicose no sangue. Esse composto age como insulina mimética e, ao contrário da insulina, não é destruído no trato digestivo, podendo ser administrado por via oral⁵⁷.

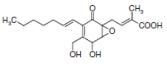
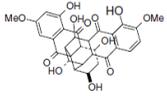
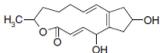
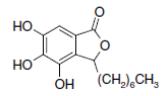
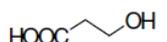
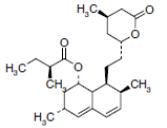
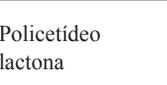
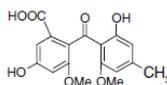
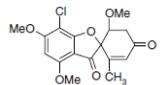
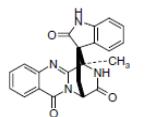
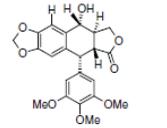
Substâncias que atuam como imunossupressores são

aquelas que impedem a rejeição de órgãos e por isso são também promissoras no tratamento das doenças autoimunes. Os endófitos podem produzir essas substâncias, como o subglutinol A e B, obtidos do fungo *Fusarium subglutinans*, e as ciclosporinas, produzidas pelo fungo *Tolyocladium inflatum*¹¹.

No Quadro 1, encontram-se outros metabólitos de origem endofítica que apresentam atividade biológica. Além desses,

existe uma grande variedade de metabólitos endofíticos bioativos, mas segundo Lam⁹, a descoberta dessas substâncias está em declínio, sendo necessária a bioprospecção de novas fontes e, se possível, em regiões e *habitats* menos explorados. Além disso, um único endófito é capaz de produzir várias substâncias bioativas, porém esses fungos não têm sido completamente explorados quanto as suas propriedades terapêuticas⁵¹.

Quadro 1: Metabólitos secundários de origem endofítica com propriedades bioativas.

Microrganismo	Planta	Metabólito	Atividade biológica	Estruturas	Referências
<i>Pestalotiopsis microspora</i> <i>Monochaetia</i> sp.	<i>Torreya taxifolia</i>	Ácido ambuico	Agente antifúngico		Li <i>et al.</i> , 2001
<i>Curvularia Lunata</i>	<i>Nipates olemda</i>	Citosquirinas	Atividade antibacteriana, potencial agente anticancerígeno		Brady <i>et al.</i> , 2000 Jadulco <i>et al.</i> , 2002
<i>Phoma medicaginis</i>	<i>Medicago sativa</i> <i>Medicago lupulina</i>	Brefeldina A	Atividade antibiótica, iniciação de apoptose em células cancerosas		Weber <i>et al.</i> , 2004
<i>Cytospora</i> sp. <i>Diaporthe</i> sp.	Fungo endofítico de Guanacaste (área de conservação da Costa Rica)	Cytosporone	Atividade Antibacteriana		Brady <i>et al.</i> , 2000, Ohzeki e Mori 2003
<i>Phomopsis phaseoli</i> <i>Melanconium betulinum</i>	<i>Betula pendula</i> , <i>B. pubescens</i> Folhas de uma árvore tropical	Ácido 3-hidroxi propiônico	Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Caenorhabditis elegans</i>		Schwarz <i>et al.</i> , 2004
<i>Phomopsis</i> spp.	<i>Erythrina cristagalli</i>	Ácido mevinico	Atividade anti-inflamatória		Weber <i>et al.</i> , 2004
<i>Phomopsis</i> spp.	<i>Erythrina cristagalli</i>	Phomol	Atividade citotóxica, antifúngica, antibacteriana e anti-inflamatória		Weber <i>et al.</i> , 2004
<i>Rhizoctonia</i> sp.	<i>Cynodon dactylon</i>	Ácido rizotônico	Atividade anti- <i>Helicobacter pylori</i>		Ma <i>et al.</i> , 2004
<i>Xylaria</i> sp. F0010	<i>Abies holophylla</i>	Griseofulvina, Decloro-griseofulvina	Antibiótico e antifúngico		Park <i>et al.</i> , 2005
<i>Eupenicillium</i> spp.	<i>Murraya paniculata</i>	Alantrifenona, Alantripinena, Alantrileunona	Inseticida		Fábio <i>et al.</i> , 2005
<i>Trametes hirsuta</i>	<i>Podophyllum hexandrum</i>	Podofilotoxina, aril tetralina lignanas	Atividade anticancerígena		Puri <i>et al.</i> , 2006

Fonte: Adaptado de Firáková *et al.*¹⁹.

3 Conclusão

No campo da indústria farmacêutica, ainda há muito a ser explorado com relação à utilização de microrganismos endofíticos. O fato de serem grandes produtores de substâncias bioativas os torna organismos de interesse, principalmente pela possibilidade da descoberta de novos princípios ativos. Aliado a isso, apresentam como vantagem o baixo custo de produção e a facilidade de manipulação das variáveis de cultivo, a fim de otimizar e viabilizar a produção dos metabólitos secundários em escala industrial.

Referências

- Petsko GA. For medicinal purposes. *Nature* 1996;384:7-9.
- Guimarães DO. Produtos naturais de fungos endofíticos associados a espécies de Asteraceae e ensaio antibiótico no modelo de infecção em *Caenorhabditis elegans*. Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo; 2009.
- Dreyfuss MM, Chapela IH. Potential of fungi in the discovery of novel, lowmolecular weight pharmaceuticals. In: Gullo VP. The discovery of natural products with therapeutic potential. Boston: Butterworth-Heinemann; 1994.
- Tan RX, Zou WX. Endophytes; a rich source of functional metabolites. *Nat Prod Report* 2001;18:448-59.
- Schulz B, Boyle C, Draeger S, Römmert AK, Krohn K. Endophyte fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycol Res* 2002;106(9):996-1004.
- Strobel G. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes Infect* 2003;5:535-44.
- Takahashi JA, Lucas EMF. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. *Quim Nova* 2008;31(7):1807-13.
- Tejesvi MV, Nalini MS, Mahesh B, Prakash HS, Kini KR, Shetty HS, Ven Subbiah. New hopes from endophytic fungal secondary metabolites. *Bol Soc Quím Méx* 2007;1(1):19-26.
- Lam KS. New aspects of natural products in drug discovery. *Trends Microbiol* 2007;15:279-89.
- Silva EO. Otimização das condições de cultivo e investigação das atividades citotóxicas e antimicrobiana de metabólitos secundários do fungo endofítico *Drechslera ravenelii*. Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo; 2010.
- Strobel GA, Daisy B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol and Mol Bio Rev* 2003;67:491-502.
- Hawksworth DL. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycol Res* 2001;105:1422-32.
- Peixoto Neto PAS, Azevedo JL, Araújo WL. Microrganismos endofíticos: Interação com as plantas e potencial biotecnológico. *Biotecnologia Ciênc Desenvolv* 2002;29:62-76.
- Azevedo JL. Microrganismos endofíticos. In: Melo IS, Azevedo JL. Ecologia microbiana, Jaguariúna: Emprapa – CNPMA; 1998.
- Kogel KH, Franken P, Huckelhoven R. Endophyte or parasite - what decides? *Curr Opin Plant Biol* 2006;9:358-63.
- Aly AH, Debbab A, Kjer J, Proksch P. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. *Fungal Divers* 2010;41:1-16.
- Stierle AA, Strobel GA, Stierle DB. Investigation of fungi associated with the pacific yew tree *taxus-brevifolia*. *Abstr Pap American Chem Soc* 1993;205:8.
- Azevedo JL, Maccheori WJ, Araújo WL, Pereira, JO. Microrganismos endofíticos e seu papel em plantas tropicais. In: Serafini LA, Barros NM, Azevedo JL. *Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria*. Caxias do Sul: EDUCS; 2002.
- Firáková S, Sturdíková M, Múcková M. Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. *Biol Bratislava* 2007;62(3):251-7.
- Kusari S, Lamshöft M, Zühlke S, Spiteller M. An endophytic fungus from *Hypericum perforatum* that produces hypericin. *J Nat Prod* 2008;71(2):159-62.
- Gomes-Figueiredo JA. Bioprospecção, caracterização morfológica e molecular de endófitos de *Maytenus ilicifolia*, com ênfase em *Pestalotiopsis* spp. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2006.
- Demain AL, Sanchez S. Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J Antibiot* 2009;62:5-16.
- Zhang HW, Song YC, Tan RX. Biology and chemistry of endophytes. *Nat Prod Rep* 2006;23:753-71.
- Schulz B, Boyle C. The endophytic continuum. *Mycol Res* 2005;109:661-86.
- Strobel G. Harnessing endophytes for industrial microbiology. *Current Opinium Microbiol* 2006;9:240-44.
- Guimarães DO, Momesso LS, Pupo MT. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Quim Nova* 2010;33(3):667-79.
- Wright GD, Sutherland AD. New strategies for combating multidrug-resistant bacteria. *Trends Mol Med* 2007;13(6):260-7.
- Penalva MA, Rowlands RT, Turner G. The optimization of penicillin biosynthesis in fungi *Trends Biotechnol* 1998;16:483-9.
- Piepersberg W. Pathway engineering in secondary metabolite-producing actinomycetes. *Crit Rev Biotechnol* 1994;14:251-85.
- Joseph B, Priya RM. Bioactive Compounds from endophytes and their potential in pharmaceutical effect: a review. *Am J Biochem Mol Biol* 2011;1:291-309.
- Borges KB, Borges WS, Pupo MT, Bonato PS. Stereoselective analysis of thioridazine-2-sulfoxide and thioridazine-5-sulfoxide: An investigation of rac-thioridazine biotransformation by some endophytic fungi. *J Pharm Biomed Anal* 2008;46:945-52.
- Borges KB, Borges WS, Duran-Pato R, Pupo MT, Bonato PS, Collado IG. Stereoselective biotransformations using fungi as biocatalysts. *Tetrahedron, Asymmetry* 2009;20:385-97.
- Doble M, Kruthiventi AK, Gaikar VG. *Biotransformations and bioprocesses*. New York: Marcel Dekker; 2004.
- Suresh B, Ritu T, Ravishankar GA. *Biotransformations as applicable to food industries*. New York: USA; 2006.
- Bicas JL, Dionísio AP, Pastore GM. Bio-oxidation of terpenes: an approach for the flavor industry. *Chem Rev* 2009;109:4518-31.
- Pfefferle C, Theobald U, Gurtler H, Fieder HP. Improved secondary metabolite production in the genus *Streptosporangium* by optimization of the fermentation conditions. *J Biotechnol* 2000;80:135-42.
- Prince KA. Determinação da atividade anti-*Mycobacterium*

- tuberculosis* de metabólicos bioativos de fungos endofíticos empregando a técnica do MABA. Araraquara: UNESP; 2008.
38. Cremasco MA, Hritzko BJ, Linda Wang NH. Experimental purification of paclitaxel from a complex mixture of taxanes using a simulated moving bed. *Braz J Chem Eng* 2009;26(1):207-18.
 39. Li Y, Lu C, Huang Y, Li Y, Shen Y. Cytochalasin H2, a new cytochalasin, isolated from the endophytic fungus *Xylaria* sp. A23. *Rec Nat Prod* 2012;6(2):121-6.
 40. Wagenaar MM, Corwin J, Strobel G, Clardy J. Three new cytochalasins produced by an endophytic fungus in the genus *Rhinoctadiella*. *J Nat Prod* 2000;63:1692-5.
 41. Wall ME, Wani MC, Cook CE, Palmer KH, McPhail AT, Sim GA. Plant antitumor agents. I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata*. *J Am Chem Soc* 1966;88:3888-90.
 42. Kusari S, Zuhlke S, Spitteller M. An endophytic fungus from *Camptotheca acuminata* that produces camptothecin and analogues. *J Nat Prod* 2009;72:2-7.
 43. Xue H, Lu C, Liang L, Shen Y. Secondary metabolites of *Aspergillus* sp. CM9a, an endophytic fungus of *Cephalotaxus mannii*. *Rec Nat Prod* 2012;6(1):28-34.
 44. Pongcharoen W, Rukachaisirikul V, Phongpaichit S, Kuhn T, Pelzing M, Sakayaroj J, Taylor WC. Metabolites from the endophytic fungus *Xylaria* sp. PSU-D14. *Phytochemistry* 2008;69:1900-2.
 45. Ezra D, Castillo UF, Strobel GA, Hess WM, Porter H. Coronamycins, peptide antibiotics produced by a verticillate *Streptomyces* sp. (MSU-2110) endophytic on *Monstera* sp. *Microbiol* 2004;150:785-93.
 46. Marinho AMR, Rodrigues-Filho E, Moitinho MDLR, Santos LS. Biologically active polyketides produced by *Penicillium janthinellum* isolated as an endophytic fungus from fruits of *Melia azedarach*. *J Brazilian Chem Soc* 2005;16:280-3.
 47. Souza AQL, Souza ADL, Spartaco Filho A, Pinheiro MLB, Sarquis MIM, Pereira JO. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens bentham*. *Acta Amaz* 2004;34(2):185-95.
 48. Strobel GA, Dirkse E, Sears J, Markworth C. Volatile antimicrobials from *Muscodor albus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology-Sgm* 2001;147:2943-50.
 49. Fernandes MR, Costa V, Silva TA, Pfenning, LH, Costa-Neto CM, Heinrich TA, et al. Biological activities of the fermentation extract of the endophytic fungus *Alternaria alternata* isolated from *Coffea arabica* L. *Braz J Pharm Sci* 2009;45(4):677-86.
 50. Hormazabal E, Piontelli E. Endophytic fungi from Chilean native gymnosperms: antimicrobial activity against human and phytopathogenic fungi. *World J Microbiol Biotechnol* 2009;25:813-19.
 51. Ramasamy K, Lim SM, Bakar HA, Ismail N, Ismail MS, Ali MF, Weber JFF, Cole ALJ. Antimicrobial and cytotoxic activities of Malaysian endophytes. *Phytother Res* 2010;24:640-43.
 52. Corrado M, Rodrigues KF. Antimicrobial evaluation of fungal extracts produced by endophytic strains of *Phomopsis* sp. *J Basic Microbiol* 2004;44:157-60.
 53. Khan AL, Hamayun M, Hussain J, Kang S, Lee I. The newly isolated endophytic fungus *paraconiothyrium* sp. LK1 produces ascotoxin. *Molecules* 2012;17:1103-12.
 54. Guo BY, Dai JR, Ng S, Huang YC, Leong CY, Ong W, Carte BK. Cytonic acids A and B: Novel tridepside inhibitors of hCMV protease from the endophytic fungus *Cytonaema* species. *J Natl Prod* 2000;63:602-4.
 55. Li E, Tian R, Liu S, Chen X, Guo L, Che Y. Pestalothols A-D, bioactive metabolites from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis theae*. *J Nat Prod* 2008;71:664-8.
 56. Harper JK, Arif AM, Ford EJ, Strobel GA, Porco Junior JA, Tomer DP, et al. Pestacin: a 1,3-dihydro isobenzofuran from *Pestalotiopsis microspora* possessing antioxidant and antimycotic activities. *Tetrahedron* 2003;59:2471-6.
 57. Zhang B, Salituro G, Szalkowski D, Li Z, Zhang Y, Royo I, et al. Discovery of small molecule insulin mimetic with antidiabetic activity in mice. *Science* 1999;284:974-7.

