



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
AGÊNCIA DE INOVAÇÃO, EMPREENDEDORISMO, PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INTERNACIONALIZAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DO ADULTO
MESTRADO ACADÊMICO



ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE FRAÇÃO
FÚNGICA OBTIDA DE *Fusarium solani*

MARLLEN SANTOS DA SILVA

SÃO LUÍS
2025

MARLLEN SANTOS DA SILVA

**ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE FRAÇÃO
FÚNGICA OBTIDA DE *Fusarium solani***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto.

Área de Concentração: Ciências aplicadas à Saúde do Adulto.

Linha de Pesquisa: Doenças infecciosas e endêmicas no Maranhão.

Orientadora: Profa. Dra. Mayara Cristina Pinto da Silva

Coordenador: Marcelo de Souza Andrade

**SÃO LUÍS
2025**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Santos da Silva, Marllen.

ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE FRAÇÃO FÚNGICA OBTIDA DE
Fusarium solani / Marllen Santos da Silva. - 2025.
60 f.

Orientador(a): Mayara Cristina Pinto da Silva.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís-ma, 2025.

1. Fusarium Solani. 2. Metabólitos Secundários. 3.
Compostos Bioativos. 4. L. Amazonensis. I. Pinto da
Silva, Mayara Cristina. II. Título.

MARLLEN SANTOS DA SILVA

**ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE FRAÇÃO
FÚNGICA OBTIDA DE *Fusarium solani***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto.

À banca examinadora da Defesa de Mestrado apresentada em sessão pública
considerou o candidato aprovado em: ____/____/____

Profa. Dra. Mayara Cristina Pinto da Silva (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Flávia Castello Branco Vidal Cabral (Examinador 1)
PPGSAD-Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dra. Ana Paula Silva de Azevedo dos Santos (Examinador 2)
DECF-Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Amanda Mara Teles (Examinador 3)
Universidade Estadual do Maranhão

Prof. Dr. Paulo Vítor Soeiro Pereira (Suplente)
Universidade Federal do Maranhão

SÚMULA CURRICULAR

Marllen Santos da Silva

Lattes: <https://lattes.cnpq.br/3675296772506652>

Orcid: <https://orcid.org/0009-0005-5402-626X>

Formação:

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

Histórico Acadêmico:

Bióloga por formação, estagiou em Laboratório de Biotecnologia de Organismos Aquáticos – BIOAQUA (UFMA) durante a graduação, onde desenvolveu projeto de conclusão de curso na área de biotecnologia enzimática voltada para organismos aquáticos. Atualmente faz parte do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto, como mestrande e estagia no Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada – NIBA (UFMA), onde desenvolve seus conhecimentos acerca das áreas Micologia, Microbiologia e Leishmaniose.

Contribuições à Ciência:

2023 – Atual. Pesquisa em desenvolvimento: Prospecção científica e tecnológica de extratos fúngicos da microbiota anemófila do Maranhão.

2023. Apresentação de trabalho em simpósio: Prospecção e aplicações dos metabólitos extraídos de *Fusarium* na saúde.

2024. Apresentação de trabalho em simpósio: Potencial antimicrobiano de *Fusarium solani*: uma abordagem alternativa no combate à infecções microbianas.

2025. Patente depositada: Creme dermatológico rico em lisozima com propriedades antimicrobianas e cicatrizantes.

Financiamentos à Pesquisa: Bolsista CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior) – em vigência.

*Às pessoas especiais da
minha vida, minha mãe, meu
marido, meus irmãos e ao meu
Miguel.*

AGRADECIMENTOS

Ao final desta jornada, que exigiu tanto da mente quanto do coração, deixo aqui minha gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para que este trabalho se concretizasse.

Agradeço primeiramente à minha orientadora, Profa. Dra. Mayara Cristina Pinto da Silva, pela sua orientação cuidadosa e regada de paciência, por seu incentivo constante e por confiar no meu potencial mesmo quando eu duvidei. E principalmente por me acolher quando eu só tinha uma ideia e uma vontade imensa de ingressar nessa jornada.

À banca examinadora, pela generosidade intelectual e pelas contribuições fundamentais para o aprimoramento deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório e aos técnicos que estiveram presentes nos bastidores dos experimentos, meu muito obrigada. A ciência é um esforço coletivo, e cada conversa, cada ajuda e cada momento compartilhado foram essenciais nesse percurso.

Aos meus familiares, pelo amor incondicional, apoio nos dias difíceis em que eu quis desistir e por nunca me deixarem ou duvidarem de que eu chegaria até aqui. Em especial a minha mãe, por me ensinar a força da persistência e ao Caio, por ser meu porto seguro, por me apoiar quando eu quis largar tudo e todas as minhas certezas para embarcar nesse caminho de talvez, por ser meu ombro para desabafar e por me dar o melhor motivo de todos para batalhar.

Agradeço aos meus amigos de fora da universidade, vocês talvez não saibam o quanto foram importantes. Obrigada por me lembrarem que existe vida além dos prazos, por me fazerem rir quando tudo parecia pesado demais, e por celebrarem cada pequena vitória como se fosse o prêmio Nobel.

Agradeço também a mim mesma. Por ter persistido. Por ter chorado, surtado, refeito capítulos inteiros, e ainda assim seguido em frente.

Finalizo este trabalho com orgulho, não apenas pelo que construí, mas pela pessoa que me tornei ao longo do caminho.

Obrigada.

“No caminho que você está indo, haverá interrupções, desvios, perdas, erros e surpresas. E quando isso acontecer, lembre-se: você está tentando fazer o seu melhor com as ferramentas que tem. E é isso tudo que você pode pedir a si mesmo, coragem.” – Taylor Swift.

RESUMO

Introdução: Leishmaniose cutânea é uma doença infecciosa causada por parasitos do gênero *Leishmania*, transmitida pela picada da fêmea do inseto flebotomíneo. Apresenta alta prevalência em regiões de baixa renda, estando atrelada a desigualdades sociais e econômicas. No estado do Maranhão, área endêmica para a doença, foram registrados 26.821 novos casos apenas no ano de 2024, apesar da subnotificação da doença. Estudos recentes discutem as limitações para os tratamentos disponíveis (antimoniais pentavalentes® e Anfotericina B®), incluindo efeitos adversos severos (nefrotoxicidade e hepatotoxicidade) e a crescente resistência dos parasitos. Frente a essas limitações, novas abordagens terapêuticas fazem-se necessárias. Entre as alternativas, destaca-se o uso de extratos fúngicos, que têm se mostrado um campo promissor de estudo. Nesse contexto, o gênero *Fusarium* apresenta ampla capacidade na síntese de metabólitos secundários, os quais possuem propriedades não apenas antibacterianas, como antivirais, ampliando suas possibilidades de aplicação farmacológica.

Objetivo: Avaliar a atividade antiparasitária e imunomoduladora dos extratos fúngicos de *Fusarium solani*. **Metodologia:** O extrato fúngico foi obtido a partir da amostra de cepa de *Fusarium solani* (Registro SISGEN Nº A6461DC) coletada da coleção de fungos do Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada (NIBA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). O extrato bruto foi submetido à fracionamento através de partição líquido-líquido utilizando acetato de etila e metanol como solventes. Para a avaliação de suas propriedades biológicas, foram realizados ensaios de citotoxicidade em células da linhagem de macrófagos murinos RAW 264.7, além de testes de atividade leishmanicida em formas promastigotas do parasito *Leishmania amazonensis*. Adicionalmente, foram feitos ensaios de análise da atividade imunomodulatória por meio de determinação da quantificação da produção de óxido nítrico (NO) em macrófagos tratados. A caracterização química preliminar dos metabólitos presentes no extrato foi realizada segundo técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).

Resultados: A análise por HPLC revelou um perfil químico complexo, com a presença de múltiplos picos indicativos de compostos bioativos. Embora a identificação estrutural definitiva ainda exija análises complementares, é possível inferir, com base em estudos prévios sobre o gênero *Fusarium*, a presença de alguns grupos químicos como, flavonoides, alcaloides e flavononas. Os ensaios de citotoxicidade demonstraram que a fração acetato de etila-metanol de *F. solani* (AcOEt-Metanol) apresenta baixa citotoxicidade sobre os macrófagos RAW 264.7, com valor de CC_{50} igual a 3.341 µg/mL. Em contrapartida, a fração AcOEt-Metanol de *F. solani* exibiu atividade leishmanicida significativa às formas promastigotas de *L. amazonensis*, com IC_{50} de 136,4 µg/mL. O Índice de Seletividade (IS), calculado como a razão entre IC_{50} e CC_{50} , foi superior a 1, indicando maior toxicidade seletiva para o parasito em comparação às células hospedeiras. Além disso, observou-se um aumento na produção de NO pelos macrófagos tratados, sugerindo um potencial efeito imunomodulador associado à fração. **Conclusão:** Os resultados indicam que a fração AcOEt-Metanol de *F. solani* não apenas possui potencial atividade leishmanicida, como também demonstra capacidade de modular a resposta imune inata. Dessa forma, a fração obtida e os metabólitos secundários extraídos são candidatos promissores para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas contra a Leishmaniose.

Palavras-chave: *Fusarium solani*; Metabólitos Secundários; Compostos Bioativos; *L. amazonensis*.

ABSTRACT

Introduction: Cutaneous Leishmaniasis is an infectious disease caused by parasites of the *Leishmania* genus, transmitted through the bite of female phlebotomine sandflies. It presents high prevalence in low-income regions and is closely linked to social and economic inequalities. In the state of Maranhão, an endemic area for the disease, 26.821 new cases were reported in 2024 alone, despite considerable underreporting. Recent studies have highlighted several limitations associated with the currently available treatments (pentavalent antimonials® and Amphotericin B®) including severe adverse effects (nephrotoxicity and hepatotoxicity) and the increasing resistance of the parasites. Given these limitations, the development of new therapeutic strategies is urgently needed. Among the alternatives, fungal extracts have emerged as a promising field of study. In this context, the *Fusarium* genus is noteworthy for its broad capacity to synthesize secondary metabolites, which possess not only antibacterial but also antiviral properties, expanding their potential pharmacological applications. **Objective:** To evaluate the antiparasitic and immunomodulatory activity of fungal extracts from *Fusarium solani*. **Methodology:** The fungal extract was obtained from a strain of *Fusarium solani* (SISGEN Registration N° A6461DC), isolated from the fungal collection of the Basic and Applied Immunology Center (NIBA) at the Universidade Federal do Maranhão (UFMA). The crude extract was subjected to fractionation through liquid-liquid partition using ethyl acetate and methanol as solvents. To assess its biological properties, cytotoxicity assays were performed on the murine macrophage cell line RAW 264.7, in addition to leishmanicidal activity tests against promastigotes forms of *Leishmania amazonensis*. Furthermore, immunomodulatory activity was evaluated by quantifying of the metabolites present in the extract was carried out using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). **Results:** HPLC analysis revealed a complex chemical profile, with multiple peaks indicative of bioactive compounds. Although definitive structural identification requires further analyses, previous studies on the *Fusarium* genus suggests the possible presence of chemical groups such as flavonoids, alkaloids and flavanones. Cytotoxicity assays showed that the ethyl acetate-methanol fraction of *F. solani* (Methanol-AcOEt) exhibited low cytotoxicity toward RAW 264.7 macrophages, with the CC₅₀ value of 3.341µg/mL. Conversely, the AcOEt-Methanol fraction from *F. solani* demonstrated significant leishmanicidal activity against *L. amazonensis* promastigotes, with an IC₅₀, was higher than 1, indicating selective toxicity against the parasite over the host cells. Additionally, increased NO production was observed in treated macrophages, suggesting a potential immunomodulatory effect associated with the fraction. **Conclusion:** The results indicate that AcOEt-Methanol fraction not only possesses promising leishmanicidal activity but also demonstrates the ability to modulate the innate immune response. Therefore, the fraction and its extracted secondary metabolites are promising candidates for the development of new therapeutic approaches against leishmaniasis.

Key-words: *Fusarium solani*; Secondary Metabolites; Bioactive Compounds; *L. amazonensis*.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Resultados CC_{50} e IC_{50} para promastigotas de *L. amazonensis*, macrófago RAW e medicamento de referência anf B 35
- Tabela 2.** Compostos bioativos, principais aplicações na saúde e tipos de microorganismos dos quais foram obtidos. 51
- Tabela 3.** Número de registro (ATCC) do isolado fúngico e organismo de origem. 52

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Características microscópicas – tipos de hifas.	17
figura 2. Ciclo reprodutivo fungos filamentosos.	19
figura 3. Características microscópicas de cepa de <i>F. solani</i> .	21
figura 4. Características morfológicas de <i>F. solani</i> , macroscopia da colônia em meio ágar sabouraud	24
figura 5. Diagrama com ciclo de vida da leishmania em suas formas promastigota e amastigota.	25
figura 6. Gráfico com número total de novos casos da leishmaniose por região, a partir do ano 2007 a 2024.	26
figura 7. Fluxograma da parte experimental. Obtenção da fração AcOEt-Metanol de <i>F. solani</i> .	30
figura 8. Níveis de liberação de óxido nítrico (NO) após 24 horas de incubação com células RAW 264.7.	36
figura 9. O cromatograma por HPLC da fração AcOEt-Metanol de <i>F. Solani</i> .	37

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de Etila
ATCC	American Type Culture Collection
Anf B	Anfotericina B®
CC₅₀	Concentração Citotóxica a 50%
AcOEt-Metanol	Fração acetato de etila-metanol de <i>F. solani</i>
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IC₅₀	Concentração Inibitória a 50%
IS	Índice de Seletividade
LC	Leishmaniose Cutânea
LPS	Lipopolissacarídeo
NIBA	Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada
OMS	Organização Mundial da Saúde
NO	Óxido Nítrico
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PGPs	Plant Growth-Promoting Fungi
PCR	Reação de Cadeia em Polimerase
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional
VOCs	Volatile Organic Compounds

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1. Características gerais dos fungos filamentosos	17
2.1.1. Taxonomia	18
2.1.2. Ciclo de vida dos fungos filamentosos	18
2.2. Gênero <i>Fusarium</i>	19
2.3. Metabólitos secundários extraídos a partir do gênero <i>Fusarium</i>	21
2.3.1. Aplicações na indústria	22
2.3.2. Aplicações na saúde	22
2.4. <i>Fusarium solani</i>	23
2.5. Leishmaniose Cutânea	24
3. OBJETIVOS	28
3.1 Geral	28
3.2 Específicos	28
4. CAPÍTULO 1	29
4.1. MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1.1. Obtenção do extrato fúngico do <i>Fusarium solani</i>	29
4.1.2 Cultura e manutenção das células RAW 264.7	31
4.1.3. Avaliação da atividade citotóxica <i>in vitro</i> da fração AcOEt-Metanol em linhagem de macrófago	31
4.1.4. Atividade anti-promastigota	32
4.1.5 Avaliação da atividade imunomoduladora de extratos fúngicos do gênero <i>Fusarium</i>	32
Determinação da produção de óxido nítrico (NO)	32
4.1.6 Análise estatística	33
4.2 RESULTADOS	34
4.2.1 Avaliação da atividade leishmanicida <i>in vitro</i> da fração AcOEt-Metanol de <i>F. solani</i> contra promastigotas de <i>L. amazonensis</i>	34
4.2.2 Determinação da atividade imunomoduladora	35
Liberação de óxido nítrico (NO)	35
4.2.3 Caracterização química da fração AcOEt-Metanol de <i>F. solani</i>	36
5. DISCUSSÃO	38
6. CONCLUSÃO	40
7. REFERÊNCIAS	41
8. CAPÍTULO 2	44

8.1. INTRODUÇÃO	45
8.2. MATERIAL E MÉTODOS	46
8.3. RESULTADOS	46
8.3.1. Obtenção dos metabólitos	47
8.3.2. Atividade antibacteriana	48
8.3.3 Atividade Antitumoral e Antiviral	49
8.3.4. Atividade Anti-inflamatória	49
8.3.5. Atividade Antifúngica	49
8.3.6. Atividade Nematicida	50
9. DISCUSSÃO	54
10. CONCLUSÃO	56
11. REFERÊNCIAS	57
ANEXO A – NORMAS REVISTA	59
Brasília Journal of Microbiology (2.1):	59
Diretrizes para publicação:	59
ANEXO B – SUBMISSÃO CAPÍTULO 2 - ARTIGO	60

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Pan-americana de Saúde-OPAS (2024), as leishmanioses são doenças parasitárias consideradas negligenciadas nas Américas, tendo sua presença diretamente atrelada às condições sociais e sanitárias, afetando populações mais economicamente vulneráveis. Dentre suas formas clínicas, a leishmaniose cutânea destaca-se como uma das mais incidentes, com significativa morbidade, sendo caracterizada pelo aparecimento de lesões ulceradas crônicas e cicatrizes desfigurantes. Possui impacto significativo na saúde pública, não apenas pela alta prevalência de casos em áreas endêmicas, como também pela escassez de medidas de controle eficazes e pelas limitações associadas aos tratamentos de referência disponíveis.

Atualmente, o tratamento da Leishmaniose é limitado a alguns poucos fármacos de referência, como os antimoniais pentavalentes (Estibogluconato de Sódio® e Antimoniato de Meglumina®), Anfotericina B® e, em casos específicos, a Miltefosina®. Contudo, estudos recentes discutem a efetividade e segurança desses medicamentos em diferentes contextos clínicos. Os tratamentos de primeira e segunda linha desencadeiam problemas aos pacientes, como a crescente resistência aos parasitos e os efeitos colaterais severos, entre os quais destacam-se hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, pancreatite, mialgia, febre, náuseas e distúrbios neuropatológicos. Outro fator predominante que contribui para o abandono terapêutico é a via de administração medicamentosa, predominantemente parenteral (intramuscular ou intravenosa), exigindo internação hospitalar ou acompanhamento rigoroso, o que torna o tratamento ainda menos acessível para populações residentes em regiões remotas e com infraestrutura precária (Ferreira *et al.*, 2024).

Diante desses desafios, torna-se essencial a busca por novas abordagens e terapias mais seguras, eficazes, menos invasivas e de fácil acesso ao paciente. A bioprospecção de agentes naturais com atividade leishmanicida surge como uma estratégia promissora para o desenvolvimento de novos fármacos. Alguns estudos vêm sendo realizados utilizando extratos fitoterápicos, entretanto, ainda há pouco conhecimento sobre o potencial uso de substâncias de origem fúngicas (Ghodsian *et al.*, 2020). Dessa forma, a bioprospecção de fungos para esta finalidade mostra-se um campo aberto a investigação (Alves, T., 2019).

O gênero *Fusarium* é um grupo de fungos filamentosos amplamente distribuído no mundo e compreende uma diversidade significativa de espécies. Esses organismos são reconhecidos por sua capacidade de produzir uma variedade de metabólitos secundários com propriedades terapêuticas importantes, como alcaloides, flavonoides, terpenos, peptídeos não

ribossomais, policetídeos e lactonas macrocíclicas, os quais demonstram atividades antibacterianas, antivirais, antifúngicas, antioxidantes e anticancerígenas (Clarence *et al.*, 2020; Mukherjee *et al.*, 2020).

Estudos prévios do nosso grupo de pesquisa apontam a capacidade farmacotecnológica dos metabólitos fúngicos secundários derivados da espécie *Fusarium solani* em diversos modelos de avaliação de atividades biológicas, incluindo ação antibacteriana, antiviral, antioxidante e antitumoral (Alves, R. 2024). Nesse sentido, parte-se da hipótese de que os extratos fúngicos são ricos em compostos bioativos com potencial efeito leishmanicida e imunomodulador, abrindo novas perspectivas para o tratamento da Leishmaniose de maneira mais acessível e menos tóxica aos pacientes.

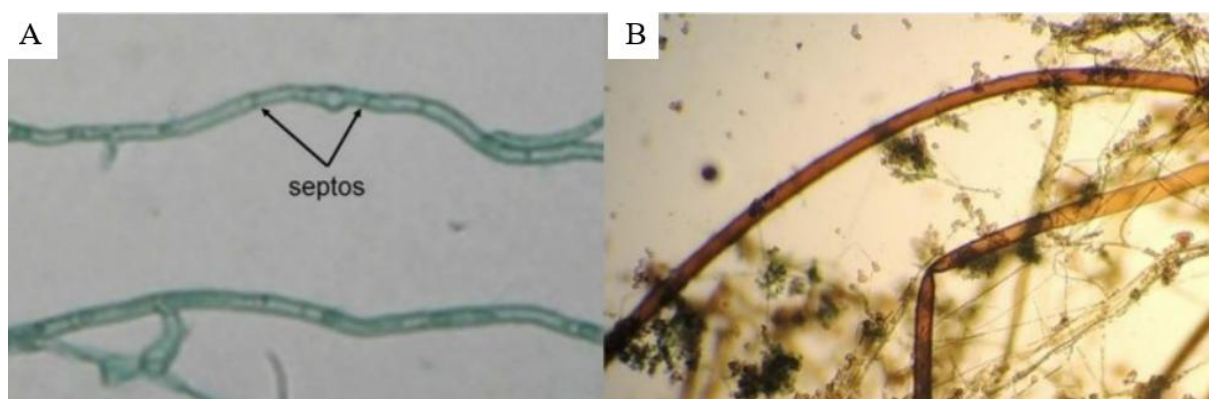
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Características gerais dos fungos filamentosos

Os fungos filamentosos são organismos multicelulares capazes de desempenhar papéis ecológicos essenciais. São principalmente considerados decompositores, simbiontes e patógenos. Possuem diversidade morfológica e funcional que reflete uma adaptação altamente especializada ao ambiente, lhes permitindo colonizar uma variedade de habitats, como solos, vegetação e alguns ambientes considerados inóspitos (Alexopoulos; Mims; e Blackwell, 1996).

São pertencentes ao Reino Fungi, sendo compostos por uma rede de filamentos celulares denominados de hifas (célula tubular com parede celular composta de quitina, podendo ser septada ou cenocítica, dependendo da espécie) (Figura 1). Tais hifas crescem em direções específicas formando uma estrutura ramificada conhecida como micélio. O micélio pode ser dividido em duas categorias principais: micélio vegetativo, responsável pela absorção de nutrientes do ambiente ao qual o fungo está inserido; e o micélio reprodutivo, responsável pela origem de estruturas especializadas na formação de esporos. A hifa é uma célula tubular com parede celular composta de quitina, podendo ser septada ou cenocítica, dependendo da espécie (Alexopoulos *et al.*, 1996; e Moore-Landecker, 1996).

Figura 1. Características microscópicas – tipos de hifas.



A. Hifa septada. **B.** Hifa cenocítica. **Autor:** adaptado de Murray *et al.* (1999).

2.1.1. Taxonomia

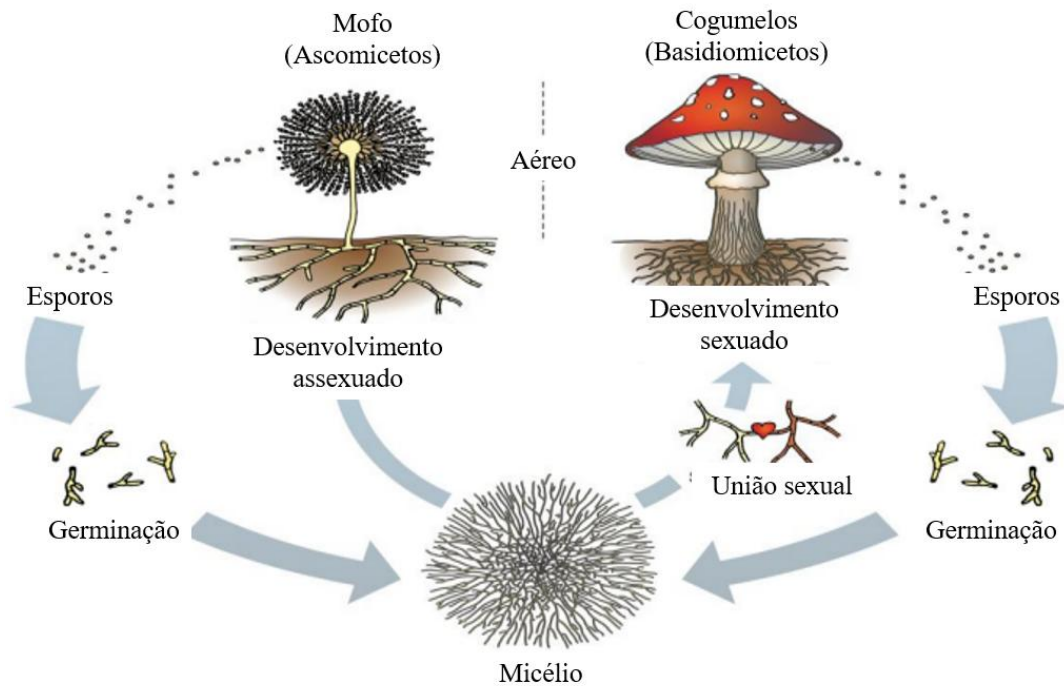
A taxonomia dos fungos filamentosos é baseada em características morfológicas macroscópicas e microscópicas, utilizando uma chave dicotômica onde analisa-se as características das hifas, conídios, blastoconídios e esporoconídios. Contudo esta foi metodologia foi significativamente refinada ao longo dos anos, adicionando-se o uso de técnicas de caracterização molecular, como a análise de DNA. Primariamente, os fungos eram classificados microscopicamente de acordo com sua estrutura reprodutiva, porém com o avanço de técnicas genéticas, a taxonomia foi reestruturada afim de refletir relações evolutivas mais precisas. As principais divisões taxonômicas dos fungos filamentosos incluem os filos, Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota e Chytridiomycota (Hyde & Dawson, 1994).

2.1.2. Ciclo de vida dos fungos filamentosos

O ciclo de vida dos fungos varia entre as diferentes classes, porém de forma geral, envolve tanto reprodução sexual quanto assexual. Dependendo de alguns fatores e condições ambientais, como a presença de umidade e nutrientes, que estimulam os fungos a formar estruturas reprodutivas.

Os fungos são capazes de realizar dois tipos de reprodução, sexuada e assexuada. A reprodução sexuada, é considerada uma estratégia de rápida disseminação e dispersão destes fungos. Essa forma é feita utilizando principalmente conídios, esporos e esporângios, que são liberados para o ambiente e germinam em novas colônias. Enquanto a reprodução assexuada, ocorre quando dois micélios compatíveis se encontram e suas hifas se fundem. A fusão dos núcleos haploides de cada hifa forma um dicarioto ou heterocarioto, no qual os núcleos permanecem separados até a próxima fase do ciclo (Figura 2) (Moore-Landecker, 1996).

Figura 2. Ciclo reprodutivo fungos filamentosos.



Autor: Adaptado de Biotechnol (2020).

2.2. Gênero *Fusarium*

O gênero *Fusarium* foi primeiro classificado taxonomicamente por Link em 1809. Posteriormente em 1821, Fries, consolidou a nomenclatura do gênero, descrevendo fungos caracterizados pela formação de conídios em formato de canoas. Em 1935, Wollenweber e Reinking propuseram uma classificação baseada nas características morfológicas do gênero, como a ausência ou presença de microconídios, sua forma, presença ou ausência e localização dos clamidósporos, além da morfologia dos macroconídios e de suas células basais. A taxonomia do gênero *Fusarium* vem sido motivo de debate entre os taxonomistas ao longo do tempo, com várias classificações morfológicas sendo descritas. Atualmente, existem cerca de 1000 espécies bem catalogadas e distribuídas, dentre estas destacam-se *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. chlamidosporo* e *F. fujikoro* como as mais frequentemente citadas em estudos (Li *et al.*, 2019; Bahadur, 2022).

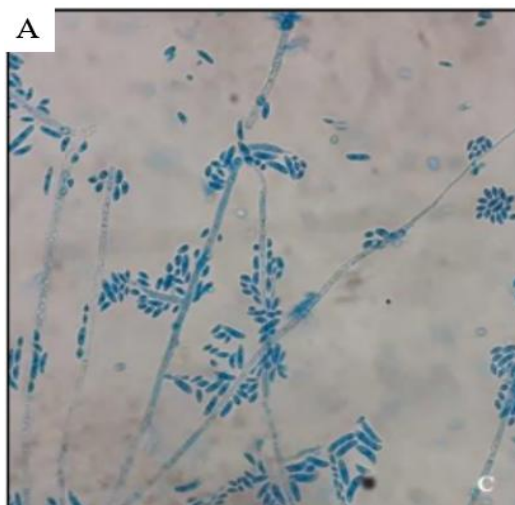
O gênero é um grupo cosmopolita de fungos filamentosos, ubíquo, complexo e heterogêneo. Pertencente ao filo dos Ascomicetos, filo caracterizado pela produção de esporos,

é considerado predominantemente como saprófito, devido a sua existência abundante em substratos orgânicos em decomposição. Contudo, sua presença não se restringe a esse ambiente, podendo ser encontrado em diversos habitats, incluindo ar, água, plantas ou até em ambientes considerados inóspitos como fundos dos oceânicos e geleiras (Samiksha; e Kumar, 2021).

Em geral suas colônias apresentam crescimento rápido até 7 dias, quando submetidos a condições favoráveis, em diferentes meios de cultura. Apresentam colônias de aspecto branco aveludado a lanosa ou algodonosa, de tamanho grande com variedade de cores, podendo várias entre rosa, cinza e branco, amarelo e marrom, com seu anverso normalmente na cor clara. Possuem como características microscópicas, hifas hialinas e septadas, conidióforos ausentes, com fiálides nascendo diretamente das hifas, formando microfialoconídios solitários ou em cachos e macroconídios grandes em formato de foice ou canoa divididos por septos (Figura 3) (Alves, R. 2024; e Summerell, 2019).

Geralmente está associado à sua capacidade de parasitar outros organismos, sendo amplamente conhecido como patógeno de plantas e vegetais. Sua patogenicidade pode acarretar doenças que comprometam ecossistemas agrícolas, afetando a produtividade e sustentabilidade desses sistemas. Além de serem bioprodutores de metabólitos secundários, como as micotoxinas, compostos que representam uma ameaça significativa à saúde humana e animal, devido aos seus efeitos nocivos e potencial bioacumulativo (Stępień, 2020; Bahadur, 2022).

Figura 3. Características microscópicas de cepa de *F. solani*. Fonte: Acervo coleção de fungos NIBA/UFMA.



- A.** Microscopia de microcultivo evidenciando as estruturas: hifas hialinas, microconídios contendo de 2 a 3 septos e macroconídios em formato de foice. Crescimento em Ágar Sabouraud, colônia de 7 dias. **Fonte:** Adaptado de ALVES, R. (2024).

2.3. Metabólitos secundários extraídos a partir do gênero *Fusarium*

Os metabólitos secundários produzidos por *Fusarium* conferem vantagens adaptativas específicas, como a inibição de competidores microbianos, colonização de hospedeiros vegetais, e modulação do sistema imunológico em infecções oportunistas em humanos. Até o momento, mais de 270 compostos bioativos únicos foram isolados de diferentes espécies deste gênero, entre eles, alcaloides, peptídeos cíclicos, amidas, terpenoides, quinonas, policetídeos e lactonas macrocíclicas. Alguns desses compostos são classificados como micotoxinas, como a fumonosina e zearelenona, e apresentam importância tanto na saúde pública quanto na agricultura, por seus efeitos tóxicos em humanos e animais e sua persistência em culturas agrícolas contaminadas (Bahadur, 2022; Stępień, 2020).

Entretanto, além de seu papel patogênico, esses metabólitos vêm despertando um grande interesse biotecnológico. Diversos estudos têm apontado propriedades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitárias e imunomoduladoras em compostos derivados de *Fusarium*, o que evidencia seu potencial como fonte de moléculas bioativas para o desenvolvimento de novos fármacos e produtos fitossanitários (Li *et al.*, 2020).

2.3.1. Aplicações na indústria

Em 2022, o valor de mercado de bioativos microbianos atingiu US\$242.0 bilhões, com projeção de crescimento para US\$346.3 bilhões até o ano de 2027. Esse aumento reflete o crescente interesse da indústria por estes bioativos, impulsionado pela descoberta contínua de novas fontes de compostos com propriedades relevantes, o que favorece a expansão e diversificação de suas aplicações (BBC, 2023).

O gênero *Fusarium* vem se destacando na indústria agrícola, devido à sua capacidade de produzir fatores que promovem o crescimento das plantas (PGPs – Plant Growth-Promoting Fungi) e compostos voláteis (VOCs – Volatile Organic Compounds). Essas substâncias contribuem para a melhoria da saúde vegetal, aumentando a biomassa e densidade radicular. Algumas espécies do gênero também são capazes de sintetizar enzimas, pigmentos, antioxidantes e outros metabólitos bioativos de interesse industrial, sendo empregados em diversos processos e etapas produtivas (Bahadur, 2022; e Li *et al.*, 2019).

No setor de alimentos, embora algumas espécies de *Fusarium* possam ser responsáveis pela contaminação através da produção de mixotoxinas, outras podem ser utilizadas de maneira benéfica, seja na produção de alimentos fermentados ou como agentes de biocontrole, contribuindo para a segurança e qualidade dos produtos alimentícios (Ekwomadu, Akinola; e Mwanza, 2021).

2.3.2. Aplicações na saúde

Suas aplicações na área da saúde são significativas, especialmente devido às suas propriedades antimicrobianas, anticancerígenas, anti-inflamatórias e imunomoduladoras de diversos compostos. Substâncias como Fusaritoamidas e Fusaeibenzamida A, demonstraram eficácia contra bactérias e fungos patogênicos, oferecendo alternativas promissoras para o combate a infecções. No campo da oncologia, derivados de Azaantraquinona e Fusarielinas apresentaram atividade citotóxica contra linhagens de células tumorais humanas, sugerindo potencial para o desenvolvimento de novas terapias anti-tumorais. Fusaristeróis B e C demonstraram capacidade anti-inflamatória, com ação inibitória sobre a 5-lipoxigenase (5-LOX), uma enzima envolvida em processos inflamatórios. Tais compostos também possuem ainda atividade imunossupressora, antioxidante e antiparasitária, ampliando suas perspectivas

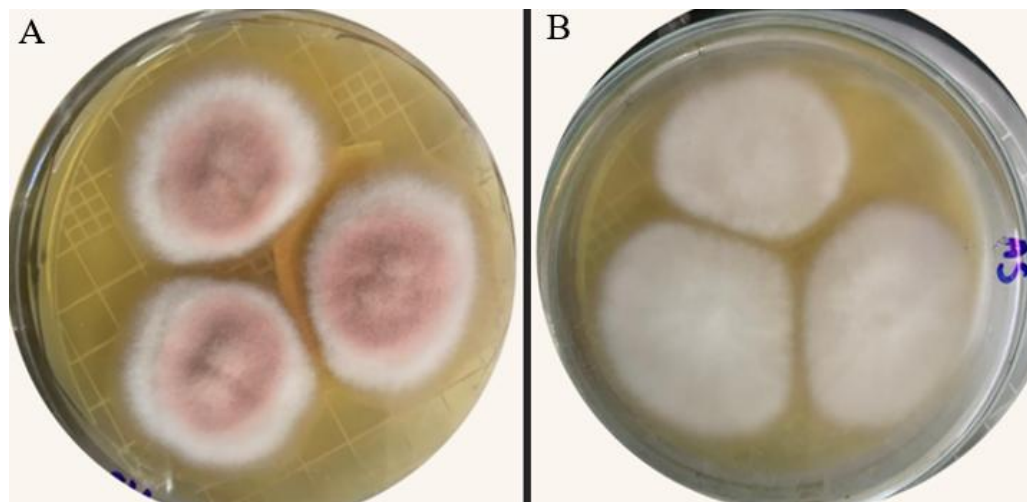
de aplicação e desenvolvimento de novos fármacos de interesse (Stępień, 2020; Bahadur, 2022; e Li *et al.*, 2019). Dentre essas atividades, destaca-se o potencial leishmanicida de determinados metabólitos isolados do gênero. Estudos conduzidos por Costa *et al.*, (2019) demonstraram que extratos obtidos a partir de linhagens de *Fusarium sp.* apresentaram atividade significativa contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, sugerindo a presença de compostos com possível aplicação no tratamento de Leishmanioses. De forma semelhante, Ferreira *et al.*, (2021) relataram a identificação de derivados de policetídeos obtidos de *Fusarium equiseti* com atividade leishmanicida *in vitro*, com baixa toxicidade para células hospedeiras, reforçando o potencial farmacológico desses metabólitos.

2.4. *Fusarium solani*

A espécie *F. solani* possui características morfológicas particulares ao seu gênero. A forma e o tamanho dos microconídios são relativamente uniformes, podendo ser ovais ou bicelulares, separadas por um septo e com formato reniforme. Os clamidósporos, apresentam baixa variabilidade morfológica, geralmente globosos e terminais, isolados aos pares ou em cadeias. Quanto à morfologia macroscópica, as colônias apresentam hifas jovens hialinas e esparsas, com micélio inicialmente branco, adquirindo tom avermelhado, amarelado ou alaranjado ao longo do seu tempo de crescimento (em torno de 7 dias) (Figura 4) (James, *et al.*, 2022). Esta espécie é reconhecida por sua alta capacidade adaptativa, que lhe permite sobreviver sob diversas condições abióticas, como variações de temperatura, pH, disponibilidade hídrica e exposição a agentes antimicrobianos. Tal capacidade adaptativa é reflexo da sua flexibilidade metabólica, particularmente evidente na produção de metabólitos secundários com ampla diversidade estrutural e funcional (Li *et al.*, 2020).

Dessa forma, considerando a diversidade morfológica e o notável potencial biossintético de *F. solani*, especialmente sua habilidade de produzir uma variedade de metabólitos secundários bioativos sob diferentes condições ambientais, surge um campo promissor para a investigação de compostos com potencial terapêutico contra doenças infecciosas negligenciadas, como a Leishmaniose Cutânea (LC).

Figura 4. Características morfológicas de *F. solani*, macroscopia da colônia em meio Ágar Sabouraud

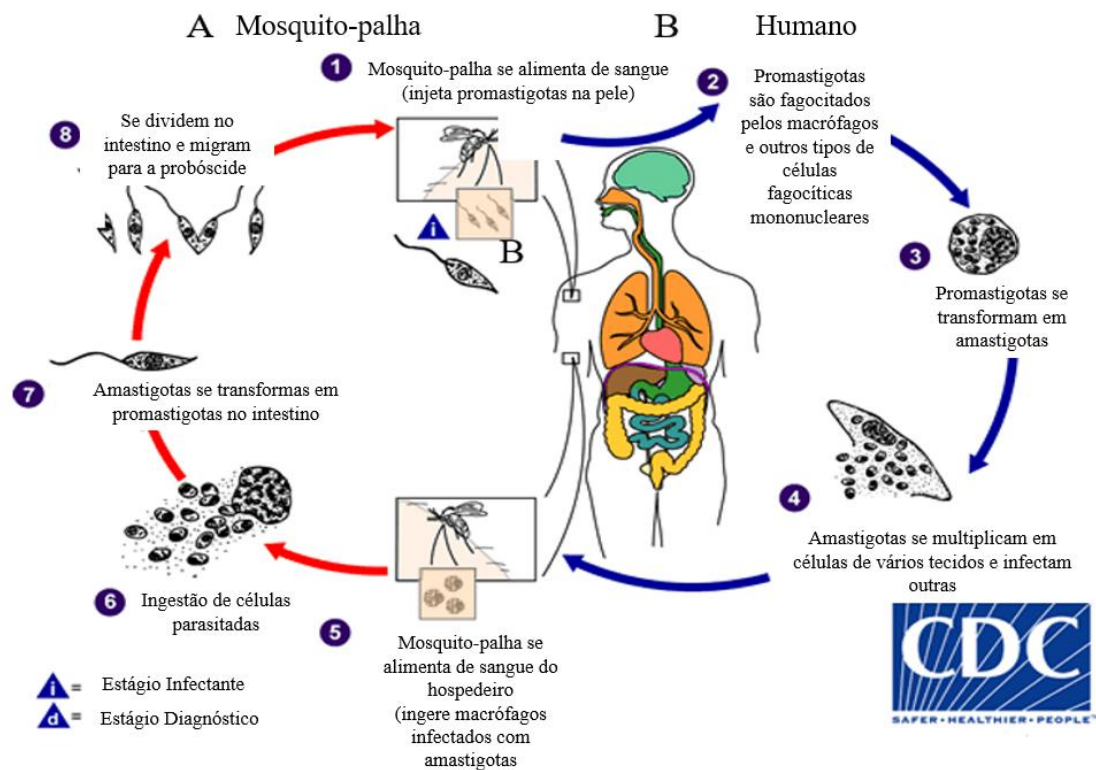


A. Verso da colônia, branca e algodoadosa com leve avermelhado ao centro. **B.** Anverso da colônia, branca e algodoadosa. Fonte: Autora.

2.5. Leishmaniose Cutânea

A Leishmaniose Cutânea é uma infecção parasitária com transmissão vetorial causada por protozoários do gênero *Leishmania* e disseminada pela picada de insetos flebotomíneos da subfamília *Phlebotominae* (Figura 5). Seu diagnóstico apesar de requerer identificação precoce e precisa, muitas das vezes é confundido com outras dermatoses infecciosas ou não infecciosas (Bastos *et al.*, 2016; e Souza *et al.*; 2019; e Leishmaniose Cutânea Manejo - DATASUS, 2024).

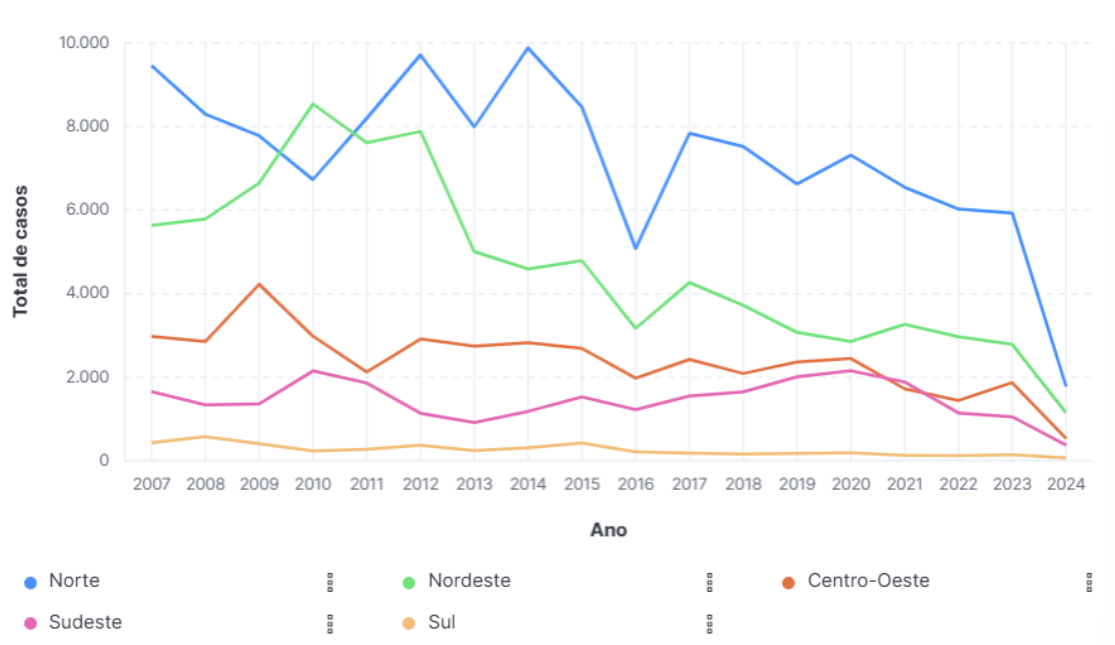
Figura 5. Diagrama com ciclo de vida da *Leishmania* em suas formas promastigota e amastigota.



A. Forma amastigota *Leishmania*. **B.** Forma promastigota *Leishmania*. **Fonte:** Adaptado de CDC (Centers for Disease Control and Prevention – Centro de Controle e Prevenção de Doenças).

Segundo DATASUS (2024), 311.968 novos casos de LC foram registrados no Brasil, embora esse número seja subestimado devido à subnotificação da doença (Figura 6). A LC é categorizada como uma doença negligenciada nas Américas e sua presença está diretamente ligada à pobreza afetando principalmente populações mais vulneráveis, além de outros fatores sociais, ambientais e climáticos que influenciam em sua epidemiologia. A fenotipia da doença possui é caracterizada por lesões cutâneas que podem variar desde pequenas púlpas a úlceras extensas, frequentemente localizadas únicas ou múltiplas. (OPAS, 2024).

Figura 6. Gráfico com número total de novos casos da Leishmaniose por região, a partir do ano 2007 a 2024.



Fonte: DATASUS (2024)

A abordagem terapêutica para LC varia dependendo da gravidade e localização das lesões. Terapias de primeira escolha incluem antimoniais pentavalentes, como o antimoniato de metilglucamina (Glucantime®) e o estibogluconato de sódio (Pentostam®), exceto para os pacientes coinfectados com HIV e gestantes (Vasconcelos, 2015). E de segunda escolha, Pentamidina, Anfotericina B, Paromicina e Miltefosina (Brasil, 2017; e Cunha, 2016).

Estudos recentes discutem o uso desses medicamentos em diferentes contextos clínicos. Esses fármacos desencadeiam problemas aos usuários, tais como a crescente resistência dos parasitos. (Ferreira *et al.*, 2024). Outro fator, está relacionado a via de administração parenteral, que necessita da colaboração do paciente e infelizmente, muitos abandonam o tratamento, favorecendo o surgimento de cepas resistentes (Silva-Lopez, 2010). Na busca por novas alternativas para o tratamento das leishmanioses, a bioprospecção de agentes com atividade anti-leishmania, é um importante caminho para a criação de novos fármacos mais eficientes e menos invasivos aos pacientes. Muitos estudos estão sendo realizados utilizando extratos fitoterápicos baseados na medicina popular (Ghodsian *et al.*, 2020). Entretanto, ainda há pouco conhecimento sobre a utilização de substâncias fúngicas para esta ação. Levando em

consideração a grande diversidade fúngica na região Amazônica e o uso dos fungos em diversas áreas da biotecnologia, principalmente no desenvolvimento de medicamentos, a bioprospecção de fungos para atividade anti-leishmania mostra-se um campo aberto a investigação (Alves, 2024).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral: Avaliar a atividade leishmanicida da fração acetato de etila-metanol obtida de *Fusarium solani*.

3.2 Específicos:

- Avaliar a toxicidade em células RAW da fração acetato de etila-metanol;
- Avaliar potencial leishmanicida da fração acetato de etila-metanol *in vitro*;
- Avaliar produção de óxido nítrico da fração acetato de etila-metanol;
- Realização caracterização química da fração acetato de etila-metanol.

4. CAPÍTULO 1:

Atividade leishmanicida de fração fúngica obtida de *Fusarium solani*

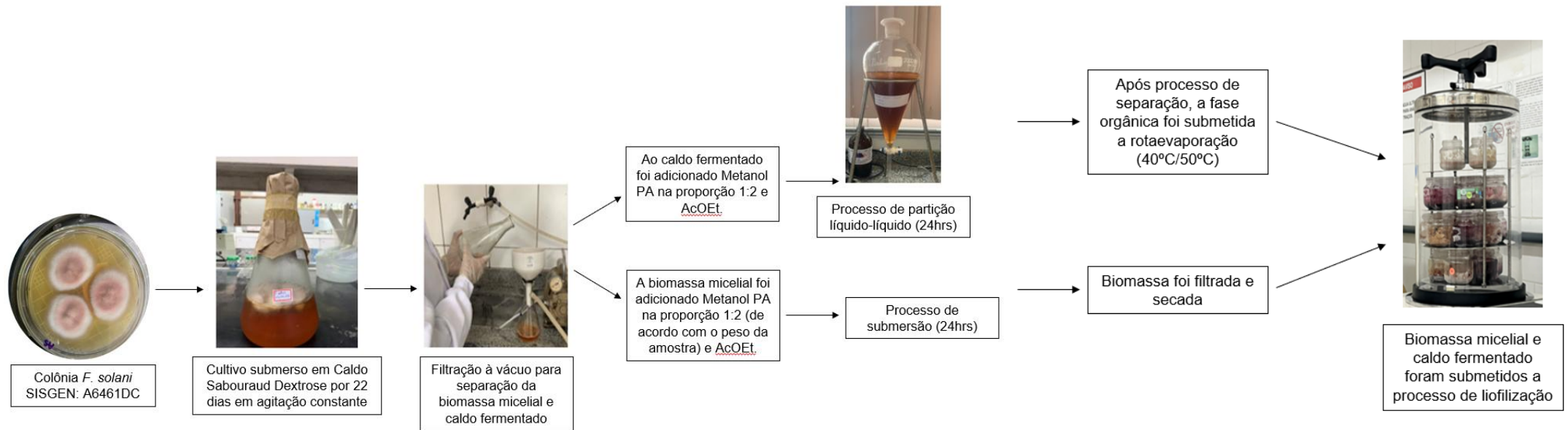
4.1. MATERIAL E MÉTODOS

4.1.1. Obtenção do extrato fúngico do *Fusarium solani*

As cepas fúngicas de *F. solani* foram obtidas a partir da “coleção de fungos da Universidade Federal do Maranhão”. A identificação da cepa utilizada foi previamente confirmada em estudo por Alves, R. (2024), por meio de técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR). O cultivo das colônias foi feito através de metodologia de repique em placa de Petri estéril. O preparo dos metabólitos foi realizado adicionando-se pequenos discos de micélio, de aproximadamente 6mm, em Erlenmeyer de 1.000mL contendo 500mL de Caldo Sabouraud Dextrose e submetidos a processo de crescimento por submersão durante 22 dias a temperatura ambiente (37°C), em agitação constante, seguindo metodologia de Kawamoto & Lorbeer (1976). A cepa fúngica utilizada em estudo foi registrada em Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional (SISGEN), sob o número de registro A6461DC.

Após o período de crescimento, o caldo fermentado foi separado da biomassa micelial por filtração à vácuo. O caldo fermentado foi submetido a fracionamento por metodologia de partição líquido-líquido com o objetivo de concentrar os compostos de interesse. Foi adicionada uma mistura de solventes composta por metanol PA e Acetato de Etila (AcOEt), na proporção 1:2 (1 parte de metanol para 2 partes de AcOEt). Após o período de 24 horas, foram separadas a fase orgânica da aquosa. A fase orgânica foi filtrada e concentrada em rotaevaporador rotatório na temperatura de 40°C/50°C para remoção completa do solvente AcOEt, após esse processo a amostra foi liofilizada. A fração obtida foi denominada (Fração Acetato de Etila-Metanol de *F. solani* (FAE-MFS), esta foi então submetida a análise por metodologia de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) (Figura 7) (Silva, A. B. *et al.*, 2020).

Figura 7. Fluxograma da parte experimental. Obtenção da fração AcOEt-Metanol de *F. solani*.



Fonte: Autora.

4.1.2 Cultura e manutenção das células RAW 264.7

As células da linhagem RAW 264.7 (linhagem de macrófagos de murinos) foram mantidas em garrafa de cultura até a formação e fechamento da monocamada, em seguida foram tripsinizadas e separadas em tubos falcons. O número de células foi contado em câmara de Neubauer a partir da diluição de 1:2 de suspensão celular (10µL de suspensão + 10µL de tripan azul). As células foram cultivadas em placas de 96 poços e incubadas em estufa de CO₂ na temperatura de 37°C por 24 horas para formação da biocamada. Foram adicionados 100µL da solução de densidade de inoculação conforme a linhagem da célula utilizada (2x10⁵).

4.1.3. Avaliação da atividade citotóxica *in vitro* da fração AcOEt-Metanol em linhagem de macrófago

Após a obtenção da fração AcOEt-Metanol foi realizada a avaliação da atividade citotóxica por metodologia de coloração utilizando reagente Rezasurina. Após período de incubação da microplaca (uma hora), foram adicionados 100µL das concentrações da fração AcOEt-Metanol de *F. solani* em diferentes concentrações de 1000 até 1.9µg/mL, em triplicata. A microplaca foi armazenada em estufa de CO₂ na temperatura de 37°C por 24 horas. Após 24 horas de tratamento, 200µL de meio novo contendo 10µL do reagente de coloração Rezasurina (C₁₂H₇NO₄). As células foram reincubadas em estufa de CO₂ por 4 horas na proteção da luz. O sobrenadante foi coletado para determinação da liberação de Óxido Nítrico (NO).

Posteriormente foi realizada a leitura em leitor de microplaca na absorbância de 570nm. A citotoxicidade foi expressa em porcentagem, sendo determinada a concentração citotóxica das células (CC₅₀) por análise de regressão logarítmica, no software Graph Pad Prism (V.9) ®.

A porcentagem de citotoxicidade e viabilidade foram calculadas utilizando-se as fórmulas descrita por Mosmann, T (1983):

$$\text{Citotoxicidade (\%)} = 1 - (\text{Abs}_{\text{tratado}} / \text{Abs}_{\text{controle}}) \times 100$$

$$\text{Viabilidade (\%)} = (\text{Abs}_{\text{tratamento}} / \text{Abs}_{\text{controle negativo}}) \times 100$$

4.1.4. Atividade anti-promastigota

Para avaliação da atividade leishmanicida da fração AcOEt-Metanol obtida de *F. solani*, foram utilizadas formas promastigotas de isolados clínicos de *Leishmania amazonensis*. Os parasitos foram mantidos em meio de cultura líquido RPMI-1640, suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB), e incubados em câmara BOD à temperatura constante de 25°C.

As promastigotas foram quantificadas em câmara de Neubauer e ajustadas na proporção de 5×10^6 parasitos/mL. Em seguida, foram distribuídas em microplaca de 96 poços contendo concentrações da fração testada. As amostras dos metabólitos secundários foram previamente diluídas em série na proporção de 1:2, com concentrações variando de 1000 até 1.9 µg/mL. As amostras foram adicionadas à placa de testes, em triplicata, nas diluições. Como controle positivo foi utilizado o medicamento de referência Anfotericina B® nas concentrações (10 até 0.015 µg/mL) (Moreira *et al.*, 2014).

A viabilidade dos parasitas foi avaliada por meio de observação microscópica com auxílio de microscópio óptico de luz branca e câmara de Nubauer. A determinação da concentração inibitória média (IC₅₀) foi realizada com base em análise de regressão logarítmica no software Graph Pad Prism (V.9) ®.

A porcentagem de inibição de crescimento foi calculada utilizando-se a fórmula proposta por Daneshmandi, S. *et al.*, (2014):

$$\text{Inibição (\%)} = (1 - \text{Abs}_{\text{tratamento}} / \text{Abs}_{\text{controle negativo}}) \times 100$$

4.1.5 Avaliação da atividade imunomoduladora de extratos fúngicos do gênero *Fusarium*

Determinação da produção de óxido nítrico (NO)

A produção de óxido nítrico foi determinada utilizando metodologia colorimétrica de Griess (N-(1-naftil)-etilenodiamina), que permite a quantificação de nitritos liberados, sendo estes um dos principais produtos da degradação de NO. O extrato de *F. solani* foi incubado com dois diferentes tratamentos, incluindo Lipopolissacarídeo (LPS) na concentração de 2.000ng/mL como controle positivo e Anf B na concentração de 10µg/mL como controle

adicional. Após o período de incubação (24 horas) foi feita a leitura em espectrofotômetro na absorbância de 540nm.

4.1.6 Análise estatística

Para análise estatística dos dados, foi realizado o teste one-way análise de variância (ANOVA), seguido pelos pós-testes de Tukey's. As diferenças foram consideradas significativas quando o $p < 0,05$. O programa utilizado para a realização da análise estatística foi o Graph Pad Prism v.9®.

4.2 RESULTADOS

4.2.1 Avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* da fração AcOEt-Metanol de *F. solani* contra promastigotas de *L. amazonensis*

Os testes de avaliação da atividade citotóxica indicaram viabilidade celular significativa para as linhas de células RAW 264.7, mesmo quando expostas a altas concentrações da fração de *F. solani* (1000, 500µg/mL), sugerindo que as células mantiveram sua integridade estrutural e funcional. A concentração citotóxica de 50% (CC₅₀) da fração AcOEt-Metanol foi igual a 3.341µg/mL⁻¹, indicando haver uma baixa citotoxicidade para as células hospedeiras, e que sua utilização em modelos experimentais é favorável. Além de sua baixa citotoxicidade sugerir uma margem de segurança maior para o uso em potencial, sendo uma característica desejável para substâncias que tenham o propósito de serem utilizadas como abordagens terapêuticas com mínima interferência nas células hospedeiras (Tabela 1).

A fração de *F. solani* apresentou um valor de Concentração Inibitória de 50% (IC₅₀) igual a 136.4µg/mL⁻¹, enquanto o medicamento de referência Anfotericina B®, obteve um valor de IC₅₀ significativamente mais baixo, 0.03µg/mL⁻¹ (Tabela 1).

Quanto à avaliação do Índice de Seletividade (IS), o valor foi maior que 1, indicando haver uma capacidade citotóxica maior para o parasito de *L. amazonensis* do que para o macrófago (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados CC₅₀ e IC₅₀ para promastigotas de *L. amazonensis*, macrófago RAW e medicamento de referência Anf B

Composto	Promastigota (<i>L. amazonensis</i>)	Macrófago (RAW)	IS (<i>L. amazonensis</i>)
	IC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)	CC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)	CC ₅₀ (RAW)/IC ₅₀
	48 horas		
		48 horas	
		3.341	
Fração AcOEt- Metanol <i>F. solani</i>	136.4		24.4
	0.03		
Anfotericina B®		11.41	380.03

Fonte: Autora.

4.2.2 Determinação da atividade imunomoduladora

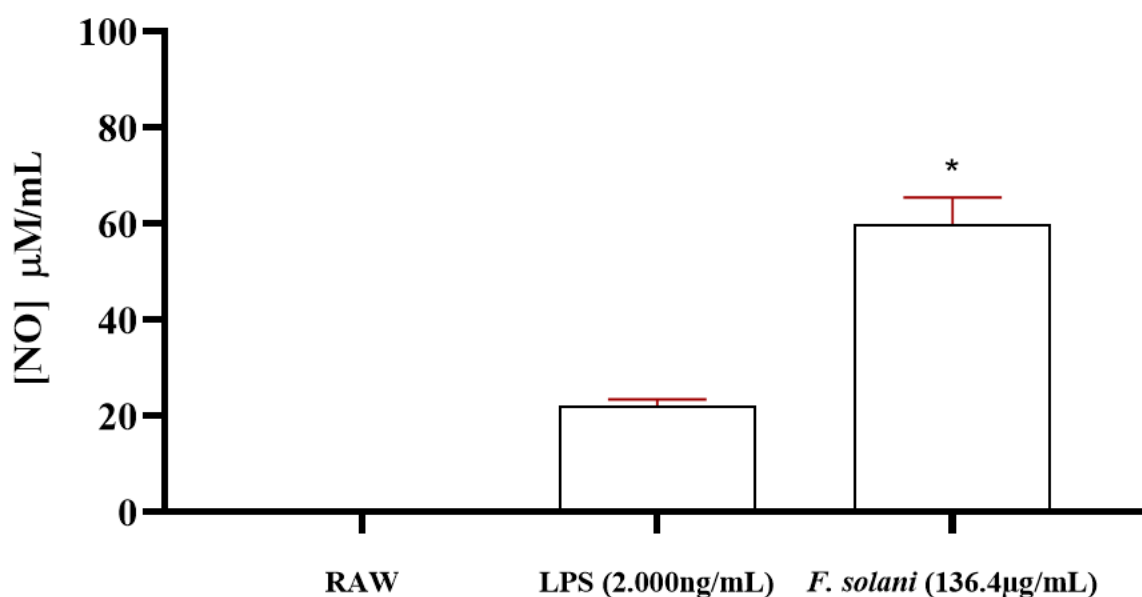
Liberação de óxido nítrico (NO)

O óxido nítrico é um importante mediador inflamatório produzido por macrófagos ativados, sendo um dos principais indicadores de resposta imunológica inata contra estímulos inflamatórios.

Os resultados indicam que o tratamento com o EFS induziu a produção significativamente maior de NO quando comparada aos controles utilizados, atingindo valores

superiores a 60 μ M/mL. A produção de NO pelos macrófagos após o período de incubação de 24 horas sugere que compostos presentes no extrato foram capazes de ativar a via de sinalização inflamatória das células RAW, demonstrando existir um potencial efeito imunomodulador dos metabólitos secundários produzidos por *F. solani* (Figura 8).

Figura 8. Níveis de liberação de Óxido Nítrico (NO) após 24 horas de incubação com células RAW 264.7.

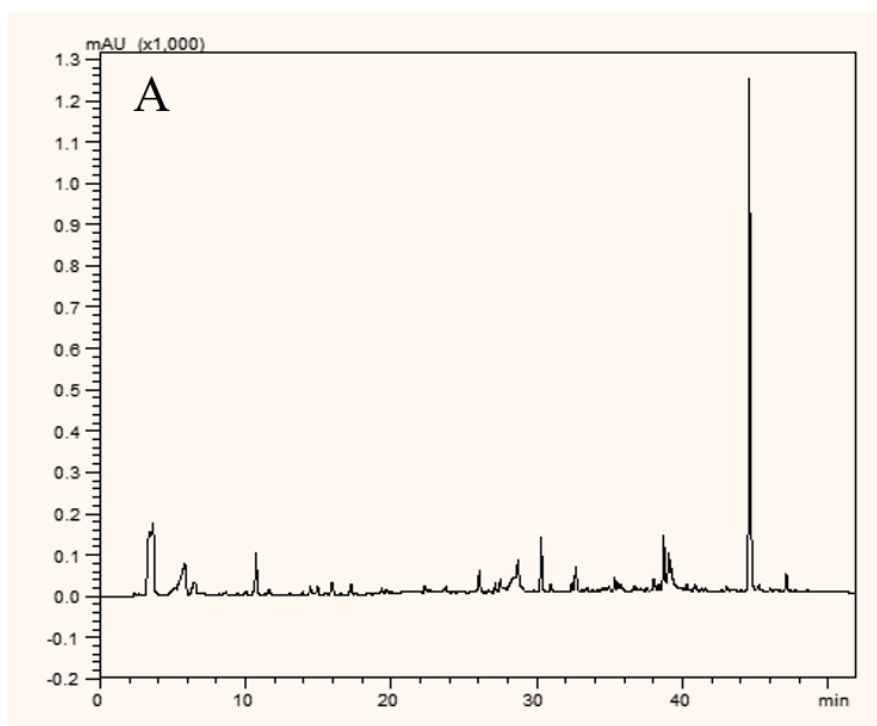


Fonte: Autora

4.2.3 Caracterização química da fração AcOEt-Metanol de *F. solani*

A análise química do extrato fúngico de *F. solani* por metodologia de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) mostrou a presença de múltiplos compostos, evidenciados pelos picos detectados no gráfico abaixo (Figura 9). O perfil cromatográfico apresenta picos distintos em diferentes tempos de retenção sugerindo haver diversidade de metabólitos secundários no extrato. Entretanto a identificação exata dos compostos presentes no EFS requer análises adicionais através de caracterização estrutural do extrato.

Figura 9. O cromatograma por HPLC da fração AcOEt-Metanol de *F. solani*



A. Detecção realizada em 254nm, evidenciando a presença de múltiplos compostos com diferentes tempos de retenção, com destaque para o pico majoritário após 45 minutos.

Fonte: Autora

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no estudo demonstram que a fração AcOEt-Metanol de *F. solani* apresentou atividade imunomoduladora significativa, evidenciada pelo aumento expressivo na liberação de óxido nítrico (NO) por macrófagos de linhagem RAW 264.7 estimulados. A produção de NO é um marcador clássico de ativação de macrófagos estando diretamente relacionado à resposta inflamatória e mecanismos de defesa contra patógenos intracelulares, como *Leishmania amazonensis*. O aumento estatisticamente significativo ($p < 0.05$) da produção de NO observado nas diversas concentrações de tratamento com a fração de *F. solani*, quando comparado ao grupo ao grupo controle negativo Lipopolissacarídeo (LPS), sugere uma ativação efetiva do sistema fagocitário (Bournonville *et al.*, 2021).

A ativação dessas células por metabólitos fúngicos sugere a presença de compostos com capacidade modular vias inflamatórias clássicas, como a indução da óxido nítrico sintase (iNOS), provavelmente por interação com receptores do tipo Toll (TLRs), culminando na ativação de NF-kB, conforme descrito por Wei & Wu (2020).

Estudos prévios do nosso grupo, demonstraram que metabólitos secundários obtidos a partir de fungos filamentosos, especialmente do gênero *Fusarium*, possuem propriedades imunomoduladoras e antiparasitárias relevantes. Entre os compostos comumente encontrados, destacam-se, alcaloides, flavonas e flavononas muitos dos quais estão associados à indução de apoptose celular, alteração da integridade da membrana e modulação do estresse oxidativo em parasitas e células tumorais (Alves, R. 2024; Li *et al.*, 2020).

A presença de picos bem definidos no cromatograma HPLC obtido no presente trabalho indica a presença de um perfil químico completo, composto provavelmente por alcaloides, lactonas e policetídeos, como anteriormente relatado por Li *et al.*, (2020) em estudos similares utilizando espécies de *Fusarium*. Ferreira, *et al.* (2021), relatou em seu estudo a identificação de derivados de policetídeos obtidos de *Fusarium equiseti* com atividade leishmanicida *in vitro*, com baixa toxicidade para as células hospedeiras, reforçando o potencial farmacológico desses metabólitos.

A capacidade leishmanicida da fração obtida em estudo foi confirmada *in vitro* contra formas promastigotas de *L. amazonensis*, apresentando um efeito dose-dependente significativo. O cálculo de concentração inibitória média (IC₅₀) permitiu identificar uma eficácia da fração AcOEt-Metanol de *F. solani* de 136.4µg/mL, consideravelmente inferior à droga padrão Anfotericina B®, que apresentou valor de IC₅₀ de apenas 0.03µg/mL. Segundo

Amaral (2006), a fração AcOEt-Metanol apresentou uma capacidade leishmanicida potencial, que corrobora com os achados do presente estudo. Ainda assim, a baixa citotoxicidade observada nas células RAW 364.7 ($CC_{50} = 3.341\mu\text{g/mL}$) resultou em um índice de seletividade (IS) superior a 1, indicando maior toxicidade para o parasita quando comparada às células hospedeiras, o que se mostra como um critério importante na triagem por novos agentes terapêuticos com menor risco de efeitos adversos em hospedeiros mamíferos.

A exploração de espécies fúngicas para a obtenção de compostos bioativos com potencial terapêutico vêm ganhando destaque na literatura científica nos últimos anos, especialmente frente ao aumento da resistência parasitária a medicamentos convencionais (Mukherjee *et al.*, 2020). Assim, os achados deste estudo contribuem com a identificação de novos candidatos naturais ao desenvolvimento de terapias alternativas para o tratamento de Leishmaniose Cutânea.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos em estudo indicam que os metabólitos secundários produzidos e secretados pelo fungo *Fusarium solani* possuem um potencial atividade leishmanicida contra promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

A fração AcOEt-Metanol de *F. solani* induziu a produção de óxido nítrico por macrófagos.

Tais resultados sugerem que os metabólitos secundários produzidos por *F. solani* exibem atividade leishmanicida e imunomoduladora, que podem vir a ser exploradas como futuras abordagens terapêuticas.

7. REFERÊNCIAS

Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology* (4th ed.). John Wiley & Sons.

Alves, R. De N. S. et al. Antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of secondary metabolites from *Fusarium* species. **OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA**, v. 22, n. 5, p. e4578, 8 maio 2024. Doi: 10.55905/oelv22n5-068.

Alves, T. A. Avaliação in vitro da atividade leishmanicida de fungos isolados de amostras de solo da região amazônica. 2019. 79 f.
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus (AM), 2019.

Bahadur, Amar. Current Status of *Fusarium* and Their Management Strategies. **Fusarium – An Overview Of The Genus**, [S.L.], 18 maio 2022. IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.100608>.

Bastos, Leila Andrade. *Avaliação do 17-AAG como potencial quimioterápico para o tratamento da leishmaniose visceral em hamster*. 2016. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz Bahia), Salvador, 2016

BCC Publishing. **BCC Research LLC**. <https://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/microbial-products-technologies-applications-and-global-markets-report.html>. Accessed 17 February 2024

Brasil. Ministério da Saúde. DATASUS. *Painel de Indicadores de Leishmaniose*. Disponível em: [https://leishmanioses.aids.gov.br/app/dashboards?auth_provider_hint=anonymous1#/view/5fc3a7ec-22b9-4402-9a52-a5001ca659ad?embed=true&_g=\(\)&show-top-menu=false](https://leishmanioses.aids.gov.br/app/dashboards?auth_provider_hint=anonymous1#/view/5fc3a7ec-22b9-4402-9a52-a5001ca659ad?embed=true&_g=()&show-top-menu=false). Acesso em: 19 fev. 2025

Brasil. Ministério Da Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 741 p.

Clarance, Prince; Luvankar, Ben; Sales, Jerin; Khusro, Ameer; Agastian, Paul; Tack, J.-C.; Khulaifi, Manal M. Al; AL-SHWAIMAN, Hind A.; ELGORBAN, Abdallah M.; SYED, Asad. Green synthesis and characterization of gold nanoparticles using endophytic fungi *Fusarium solani* and its in-vitro anticancer and biomedical applications. *Saudi Journal Of Biological Sciences*, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 706-712, fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.12.026>.

Costa, R. M., de Souza, C. R., Ramos, F. S., et al. (2019). *Leishmanicidal activity of Fusarium sp. extract against Leishmania amazonensis and cytotoxicity on mammalian cells*. *Pharmaceutical Biology*, 57(1), 140–147. <https://doi.org/10.1080/13880209.2019.1575815>

Cunha, L. F. Plantas do cerrado brasileiro: triagem fitoquímica e de atividades biológicas de espécies nativas do município de Diamantina, região do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais. 2016. 317 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2016.

Ekwomadu, Theodora I.; Akinola, Stephen A.; Mwanza, Mulunda. Fusarium Mycotoxins, Their Metabolites (Free, Emerging, and Masked), Food Safety Concerns, and Health Impacts. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, [S.L.], v. 18, n. 22, p. 11741, 9 nov. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph182211741>.

Ferreira Et Al: Ferreira, Bianca A.; Coser, Elizabeth M.; Laroca, Stephane de; Aoki, Juliana I.; Branco, Nilson; SOARES, Gustavo H. C.; Lima, Mayara I. S.; Coelho, Adriano C.. Amphotericin B resistance in Leishmania amazonensis: in vitro and in vivo characterization of a 42eguminos clinical isolate. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.L.], v. 18, n. 5, p. 1-18, 20 maio 2024. Public Library of Science (PloS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0012175>.

Ghodsian, Sahar; Taghipour, Niloofar; Deravi, Niloofar; Behniafar, Hamed; Lasjerdi, Zohreh. Recent researches in effective antileishmanial herbal compounds: narrative review. **Parasitology Research**, [S.L.], v. 119, n. 12, p. 3929-3946, 17 ago. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-020-06787-0>.

Hyde, K. D., & Dawson, T. L. (1994). *Fungal Diversity in the Tropics*. International Journal of Tropical Fungal Diversity, 1(1), 1-28.

James, J. E. *et al.* Morphology, phenotype, and molecular identification of clinical and environmental *Fusarium solani* species complex isolates from Malaysia. *Journal of Fungi*, v. 8, n. 8, p. 845, 2022. DOI: 10.3390/jof8080845.

Li, M., Yu, R., Bai, X., Wang, H., & Zhang, H. (2020). *Fusarium*: a treasure trove of bioactive secondary metabolites. *Natural Product Reports*, 37(12), 1568–1588. Doi.org/10.1039/D0NP00038H.

Moore-Landecker, E. (1996). *Fundamentals of the Fungi* (4th ed.). Prentice Hall

Mukherjee, A. *et al.* Drug resistance in Leishmania: emerging challenges and future perspectives. **Current Drug Targets**, v. 21, n. 1, p. 55–70, 2020. <https://doi.org/10.2174/1389450120666191105110346>

Organização Pan-Americana Da Saúde (OPAS). Leishmaniose: Visão Geral. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose>. Acesso em: 17 fev. 2024.

Samiksha; Kumar, Sanjeev. Molecular Taxonomy, Diversity, and Potential Applications of Genus *Fusarium*. **Fungal Biology**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 277-293, 2021. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-67561-5_8.

Silva-López, R. E. DA. Proteases de Leishmania: novos alvos para o desenvolvimento racional de fármacos. *Química Nova*, v. 33, n. 7, p.1541–1548, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/qn/v33n7/a22v33n7.pdf>.

Souza, A. A.; Silva, B. B.; Pereira, C. C. Leishmaniose: uma revisão sobre a epidemiologia, diagnóstico e tratamento. *Revista Brasileira de Saúde*, v. 28, n. 2, p. 123-135, 2019.

Souza, Raphaella Morais Pessoa de; Nogueira, Laura Carolina Daroszenwski; Bernardino, Julia de Oliveira; Catharino, Letícia Christiany Rodrigues; Oliveira, Arthur Carvalho de. LEISHMANIOSE CUTÂNEA: DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS E MANEJO CLÍNICO. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação — Rease*, São Paulo, v. 10, n. 8, p. 2905-2912, 8 Não é um mês valido! 2024.

Stępień, Łukasz. Fusarium: mycotoxins, taxonomy, pathogenicity. *Microorganisms*, [S.L.], v. 8, n. 9, p. 1404, 12 set. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms8091404>.

Summerell, Brett A.. Resolving Fusarium: current status of the genus. *Annual Review Of Phytopathology*, [S.L.], v. 57, n. 1, p. 323-339, 25 ago. 2019. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100204>.

Vasconcelos, M. F. DE. Atividade de análogos de inibidores de protease do HIV contra *Leishmania* spp. [s.l.] Instituto Oswaldo Cruz, 2015.

WEI, J.; WU, B. Chemistry and bioactivities of secondary metabolites from the genus *Fusarium*. *Fitoterapia*, v. 146, p. 104638, out. 2020 doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104638.

8. CAPÍTULO 2

Artigo submetido em revista Brazilian Journal of Microbiology

Fator de Impacto: 2.1

Qualis: A2

Metabólitos Secundários de *Fusarium*: Potencial Bioativo e Aplicações na Saúde

Resumo: Metabólitos secundários obtidos a partir de fungos do gênero *Fusarium* têm se mostrado um campo de interesse para estudos como uma fonte promissora de compostos bioativos com potenciais aplicações na área da saúde e produção de fármacos (antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória, anticancerígena). Desta forma o objetivo deste trabalho foi uma prospecção dos principais grupos de metabólitos secundários encontrados a partir de extratos fúngicos do gênero *Fusarium* e suas aplicações práticas na área da saúde. A partir da seleção de 13 artigos científicos publicados, foi possível identificar as metodologias mais frequentemente empregadas para obtenção dos extratos fúngicos (extração por partição com solventes orgânicos – AcOEt, Metanol e Diclorometano). As espécies mais citadas foram *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. proliferatum*, *F. graminearum* e *F. avenaceum*. Dentre os metabólitos isolados, destacaram-se fumonosinas, beauvericinas, eniatinas, ácido fusárico, quinonas e alcaloides, com atividades antimicrobiana, antifúngica, antitumora, anti-inflamatória e nematicida. Os resultados indicam que os metabólitos de *Fusarium* representam uma fonte promissora para o desenvolvimento de novos fármacos e produtos biotecnológicos, sendo necessários avanços nas técnicas de extração, purificação e avaliação farmacológica.

Key-Words: Extratos fúngicos; Compostos Bioativos; Aplicações na Saúde; e *Fusarium*.

8.1. INTRODUÇÃO

Os fungos são os microrganismos mais abundantes e amplamente distribuídos ao redor do mundo, são considerados cosmopolitas e ubíquos e seu habitat pode variar desde solos a sedimentos, água, plantas ou órgãos e tecidos de animais. Como uma resposta adaptativa às condições adversas do ambiente ao qual estão inseridos, estes organismos possuem um mecanismo de produção especializada capaz de sintetizar metabólitos secundários (MS) [1, 2]. Este tipo de resposta, aliado à sua estrutura única e a sua biodiversidade fazem com que sejam considerados uma promissora fonte para a obtenção destes compostos bioativos, como flavonoides, alcaloides, beauvericina, flavononas, entre outros [2].

Essa diversidade metabólica, associada à capacidade dos fungos em responderem quimicamente aos estímulos do ambiente, tem despertado interesse científico e tecnológico. Nesse contexto, os avanços da biologia sintética, da genética, da bioinformática e da química de produtos naturais é possível extrair e selecionar, a partir dos metabólitos primários e secundários produzidos pelos fungos, compostos para a formulação de novas drogas [3].

Em 2022, o valor de mercado de bioativos microbianos foi de US\$242.0 bilhões, com projeção para atingir US\$346.3 bilhões até 2027. Esse crescimento reflete a valorização dos bioativos microbianos na indústria, impulsionada pela descoberta de novas fontes de compostos com propriedades terapêuticas (BBC Research, 2023).

O Gênero *Fusarium*, em particular, tem se destacado na produção de MS com potenciais aplicações na área da saúde, incluindo atividades antibacteriana, antifúngica, antiviral e imunossupressora [5]. Este gênero, de acordo com a classificação taxonômica, constitui um estado anamorfo da ordem Hypocreales e pertence ao grupo dos Ascomycetes. Existem pelo menos 70 espécies de *Fusarium spp.* Bem descritas e definidas [3, 5].

O interesse no desenvolvimento de novos fármacos a partir de fontes naturais impulsiona a pesquisa nesse gênero, com destaque para espécies como *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani*, que possuem grande valor comercial e biotecnológico [1].

Estudos demonstram que os MS de *Fusarium*, como alcalóides, peptídeos, amidas, terpenóides, quinonas e piranonas, podem apresentar propriedades terapêuticas em tratamentos de câncer, malária, infecções fúngicas e bacterianas, e distúrbios cardiovasculares e neurológicos [6,7].

Apesar do crescente número de estudos envolvendo metabólitos secundários obtidos de espécies do gênero *Fusarium*, a maioria das publicações mantém-se concentrada em suas

atividades antimicrobianas, antifúngicas e antitumorais, havendo ainda uma escassez de investigações voltadas para o potencial antiparasitário e imunomodulador.

Dessa forma, este trabalho visa prospectar os principais grupos de MS presentes nos extratos fúngicos do gênero *Fusarium* mais comumente citadas em estudos científicos, assim como suas aplicações práticas na área da saúde.

8.2. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma revisão da literatura de caráter analítico acerca do tema: “quais os principais grupos de metabólitos secundários são encontrados em extratos obtidos a partir do gênero *Fusarium* e suas potenciais aplicações na área da saúde”.

A coleta de dados foi realizada no período de junho a agosto do ano de 2024 nos bancos de dados de acesso público: PubMed, Cochrane Library, ScienceDirect e Google Scholar. Como critérios de inclusão foram definidos: artigos científicos publicados entre os anos de 2019 e 2024, nacionais ou internacionais redigidos em língua inglesa e portuguesa, realizados *in vitro* ou *in vivo* que melhor se alinhassem ao tema proposto pela pesquisa.

Para delimitação dos artigos foram utilizados os descritores, “extratos fúngicos” AND “metabólitos secundários” AND “aplicações na saúde” AND “*Fusarium*”; e AND “metabólitos secundários fúngicos”. Todos os descritores foram adicionados em pesquisa nas línguas portuguesa e inglesa.

Como critérios de exclusão estabelecemos: artigos que se encaixavam nos descritores, porém não apresentavam como resultado ao final do estudo quais grupos de metabólitos secundários foram encontrados e artigos com resultados que se repetiam entre si.

Foi feita uma análise da leitura analítica dos artigos selecionados, com o objetivo de ordenar e categorizar as informações obtidas que melhor respondessem ao objetivo da pesquisa.

8.3. RESULTADOS

Foram encontrados 27 artigos que se encaixavam nos critérios de inclusão, destes 14 foram descartados após uma leitura minuciosa utilizando-se os critérios de exclusão previamente estabelecidos. A curadoria de artigos foi encerrada ao atingir número amostral

igual a 13, devido a repetição excessiva de dados amostrais.

8.3.1. Obtenção dos metabólitos

A metodologia mais empregada para obtenção das frações a partir do extrato fúngico de fungos, utiliza a massa micelial ou o caldo fermentado obtidos. Entretanto, apenas quatro artigos mencionaram a aplicação desse método, enquanto os demais não detalharam a metodologia empregada na obtenção dos extratos. No artigo “Anti-nemic secondary metabolites produced by *Fusarium oxysporum*”, os autores descreveram a extração de metabólitos secundários (MS) diretamente do caldo fermentado de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, utilizando a técnica de partição sequencial para o isolamento dos compostos de interesse com auxílio dos solventes Acetato de Etila (AcOEt) e N-butanol. No estudo “The effects of leguminos potato dextrose agar media on secondary metabolite production in *Fusarium*”, a extração de MS foi realizada a partir de amostras miceliais de diferentes espécies de *Fusarium*. Nesse caso, os autores utilizaram uma mistura de solventes orgânicos (AcOEt: Diclorometano: Metanol) e Ácido Fórmico para a extração dos bioativos. ALVES, Rita (2024) em seu estudo “Antioxidant, anticâncer and antimicrobial activity of secondary metabolites from *Fusarium* species” detalhou o uso de caldo fermentado e biomassa micelial extraídos de *F. solani* e *F. oxysporum* para obtenção dos MS com o auxílio de solventes e posterior processo de partição com AcOEt. Por sua vez, o artigo “*Fusarium proliferatum* secondary metabolite profile in vitro depends on the leguminos the isolates and is clearly reduced in stored garlic” corroborou a prática, utilizando a massa micelial de *Fusarium spp.* como material de partida, porém com foco na extração de DNA.

Após a obtenção das frações fúngicas, nos quatro estudos mencionados, os autores empregaram a metodologia de partição líquido-líquido, seguida do processo de rotaevaporação para completa remoção dos solventes, logo após foram submetidos à liofilização. E por fim, a identificação e caracterização dos grupos de MS específicos foi feita com uso do aparelho de espectrometria de massa em HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) por metodologia de coluna.

Os isolados fúngicos utilizados nos estudos foram originadas de isolados fúngicos endofíticos, anemófilos e de solo (Tabela 1 e 2). As espécies de *Fusarium* mais citadas nos artigos selecionados foram, *Fusarium oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. graminearum*, *F. solani*,

F. avenaceum. Em menor frequência, foram mencionadas as espécies *F. sambucinum*, *F. chlamydosporum*, *F. fujikoro*i e *F. tricinctum* identificadas nas Tabela 1.

Os metabólitos secundários mais citados nos artigos analisados foram, fumonosina (FB1, FB2, FB3), beauvericina, eniatina, amidas, bikaverina, ácido fusárico, ciclo pepsídeos, tricotecenos, benzamidas e lucilactaena. Em menor frequência, gibepirona, quinona (anidrofusarubina, fusarubina e derivados), alcalóides (jasmonatos, antralinatos e terpenóides), sesterterpenos (fusarielinas e neomangicols) e fusaramin.

Tais compostos são capazes de desempenhar papéis biológicos significativos, atuando como agentes antimicrobianos, antitumorais, antivirais, antimaláricos, anti-inflamatórios, antifúngicos, nematocidas, antioxidantes, inseticidas e imunossupressores. Alguns destes possuem aplicação direta na formulação de fármacos de interesse clínico, como a morfina, destacando seu grande potencial na área da saúde. A ampla gama de atividades biológicas que são atribuídas a esses compostos demonstra sua relevância em estudos básicos e para o desenvolvimento de terapias inovadoras (Tabela 1).

8.3.2. Atividade antibacteriana

Metabólitos secundários extraídos a partir de fungos do gênero *Fusarium*, demonstraram uma ampla atividade antimicrobiana, em particular os fusariumins C e D, poliquetídeos obtidos de *Fusarium oxysporum* (ZZP-R1), isolados da planta costeira *Rumex madaio*, apresentaram atividade contra *Staphylococcus aureus* com concentrações inibitórias mínimas (MICs) de 6.25µM e 25.0µM, respectivamente [8]. O composto fusaramin, produzido por *Fusarium sp.*, também apresentou atividade antimicrobiana destacada por meio de screening contra *Saccharomyces cerevisiae* multiresistente à fármacos, embora os dados específicos de MIC ou zonas de inibição (ZI) não tenham sido detalhados pelos autores do estudo [1]. Fusarithioamide A, um composto benzamídico isolado do fungo *F. chlamydosporium*, apresentou atividade antimicrobiana e citotóxica contra *Bacillus cereus*, *S. Aureus* e *Escherichia coli*, quando comparado ao fármaco de referência, Ciprofloxacina® [9]. Trans-dihidrofusarubina, mostraram atividade contra *S. Aureus* com MIC < 4µg/Ml. (-)-4,6'-anidrooxisporidinona isolada de *F. oxysporum* apresentou atividade anti-*Bacillus subtilis* e anti-MRSA (*S. Aureus* resistente à metilicina) [8]. Observou-se que os metabólitos extraídos das amostras de *F. solani* e *F. oxysporum* isoladas do ar, reduziram significativamente a viabilidade de *E. coli* nas concentrações testadas [10].

8.3.3 Atividade Antitumoral e Antiviral

Derivados de lucilactaena isolados de *Fusarium sp.* (RK97-94) apresentaram atividade antimalárica contra o parasito *Plasmodium falciparum*, com IC₅₀ igual a 62μM, 0.0015μM e 0.68μM [11]. Outros compostos como, fusapyridon A e oxisporidona exibiram atividade contra cepas de coronavírus (HCoVOC43) com IC₅₀ igual a 6.65μM [8]. Enquanto, eniatinas desenvolveram proteção para células linfoblastóides humanas contra HIV-1, alcalóides indólicos apresentaram atividade antiviral contra o vírus Zika. O efeito citotóxico dos metabólitos isolados de *F. solani* (IFS) e *F. oxysporum* (IFO) foi avaliado em células de adenocarcinoma mamário humano (MCF-7) e células normais de próstata (PNT) através de ensaio MTT. O metabólito IFS induziu uma redução, embora não significativa na viabilidade das células de MCF-7 no período de 48hrs e não teve efeito redutivo na viabilidade de células PNT, enquanto o metabólito IFO apresentou efeito proliferativo em células MCF-7 (48hrs) e se mostrou citotóxico para células PNT no período de 48hrs na concentração de 1000μg/mL [10].

8.3.4. Atividade Anti-inflamatória

Os compostos bioativos, fusaristeróis (B, C e D) e itegracides isolados a partir do fungo endofítico *Fusarium sp.* associado à planta *Mentha longifolia* demonstraram potencial inibitório significativo da 5-lipoxigenase (5-LOX), uma enzima envolvida em processos inflamatórios. Testes de IC₅₀ realizados com os fusaristeróis B e C apresentam valores iguais a 3.61μM e 2.45μM, respectivamente, indicando alta eficácia quando comparados ao medicamento de referência, Indometacina® (IC₅₀ padrão não apresentado). Enquanto o espiromoterpenóide, fusariumim B, isolado de *Fusarium sp.* Apresentou atividade anti-inflamatória moderada (redução na produção de NO), quando testado para liberação de óxido nítrico (NO) *in vitro* [12].

8.3.5. Atividade Antifúngica

Metabólitos como fusaribenzamida A, um composto derivado de aminobenzamida, apresentaram atividade antifúngica relevante contra cepas de *Candida albicans*. O teste MIC realizado pelos autores do estudo teve resultado igual a 11.9μg/disco, quando comparado à nistatina (MIC= 4.9μg/disco) [12]. O bioativo (-)-oxysporidinona exibiu atividade fungistática contra as cepas de *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Botrytis 49egumin*, *Alternaria alternata* e *Venturia inequalis* com valores de testes IC₅₀ iguais a 2.0μg/Ml, 10μg/Ml, 1μg/Ml, 50μg/Ml e

10µg/Ml, respectivamente [1]. O metabólito de *F. oxysporum* apresentou efeito redutivo para *C. albicans* e *C. krusei* com valores de teste IC₅₀ iguais a 8, 16, 32µg/Ml e 0,625, 8µg/Ml, respectivamente, enquanto *F. solani* reduziu a viabilidade em todas as concentrações [8]. Outros compostos também apresentaram atividade antifúngica como, fusaripeptideo, fusaristerol A, equisetina e fusarimicina [12].

8.3.6. Atividade Nematicida

Metabólitos secundários e extratos fúngicos têm demonstrado atividade nematicida relevante contra algumas espécies de nematoides, como *Meloidogyne incógnita* e *Rotylenchulus reniformis*. Fusarubina e anhidrofusarubina, isoladas a partir de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, mostraram atividade contra *M. Incógnita*, com concentração letal (LC₅₀) igual a 248.9µg/Ml e 257.6µg/Ml, respectivamente. O metabólito bikaverina, apesar de possuir fraco potencial antinêmico, apresentou LC₅₀=392.9µg/Ml contra *M. Incógnita* [1, 13].

Tabela 2 Compostos bioativos, principais aplicações na saúde e tipos de microrganismos dos quais foram obtidos.

Bioativo Metabólico	Aplicações na saúde	Microrganismo	Ref.
Amidas	Antimicrobiana, antimalariana	<i>F. sambucinum</i> ; <i>F. oxysporum</i> ; <i>F. roseum</i>	[2, 8, 9, 13]
Alcalóides	Farmacológica (produção de morfina), antimicrobiana e antiparasitária	<i>F. oxysporum</i> ; <i>F. heterosporum</i>	[3, 6, 13, 14]
Esfangolipídeos	Distúrbios neurológicos e anticancer	<i>F. proliferatum</i>	[5]
Peptídeos	Antimicrobiana, antitumoral, imunossupressora e antifúngica	<i>F. decemcellulare</i>	[6, 7, 10, 13, 14]
Policetídeos	Antimicrobiana e antifúngica	<i>F. fujikoroii</i> ; <i>F. roseum</i>	[2, 7, 8]
Peptídeos Cíclicos	Antifúngica, antibacteriana e antimicrobiana	<i>F. graminearum</i> ; <i>F. avenaceum</i> ; <i>F. fujikoroii</i> ; <i>F. pseudograminearum</i> ; <i>F. proliferatum</i>	[6, 7]
Piridonas	Antifúngica e antimicrobiana	<i>F. fujikoroii</i>	[2]
Quinonas	Antimicrobiana, produção de pesticidas e antitumoral	<i>F. semitectum</i> ; <i>F. oxysporum</i> ; <i>F. solani</i>	[1, 2, 7, 11, 13]
Terpenóides	Antimicrobiana e citotóxica	<i>F. solani</i> ; <i>F. tricinum</i> ; <i>F. oxysporum</i> ; <i>F. roseum</i>	[6, 7, 8, 10, 13, 14]

Tabela 3. Número de registro (ATCC) do isolado fúngico e organismo de origem.

Isolado Fúngico (ATCC)	Microrganismo	Origem Isolado Fúngico	Ref.
SYP0056; IFA350; FKI-4553; IOC3898; e N17B	<i>F. oxysporum</i>	<i>Dianthus caryophyllus</i> , <i>Allium sativum</i> var. <i>Sabagold</i> , <i>A. sativum</i> var. <i>Garcua</i> , <i>Cicer arietinum</i> , <i>Rumex madaio</i> , <i>R. midair</i> , <i>Solanum lycopersicum</i> , <i>Musa spp.</i> ; fungo anemófilo (isolado do ar)	[1, 2, 7, 9, 11, 14]
PH-1; e NRRL 31084	<i>F. graminearum</i>	<i>Trinctum aestivum</i> , <i>Hordeum vulgare</i> , <i>Zea mays</i>	[6, 7, 14]
ET-1; IFA22; ZS07	<i>F. proliferatum</i>	<i>Allium sativum</i> var. <i>Sabagold</i> , <i>A. sativum</i> var. <i>Garcua</i> , <i>Trinctum aestivum</i> , <i>Zea mays</i> , <i>Oryza sativa</i>	[2, 5, 6]
SF-1502; Fa05001	<i>F. avenaceum</i>	<i>Hordeum vulgare</i> , <i>Trinctum aestivum</i>	[6, 7]
JS-0169; HD15-410; FK1-6853; e B-18	<i>F. solani</i>	<i>Cucumis spp.</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Solanum lycopersicum</i> , <i>S. Tuberosum</i> , <i>Allium spp.</i> ; fungo anemófilo (isolado do ar)	[3, 6, 8, 9, 11]
CBS269.95	<i>F. sambucinum</i>	<i>Allium sativum</i> var. <i>Sabagold</i> , <i>A. sativum</i> var. <i>Garcua</i>	[7]

IMI 58289	<i>F. fujikuroi</i>	<i>Oryza sativa</i>	[1, 12]
CS3096	<i>F. pseudograminearum</i>	<i>Trinctum aestivum, Hordeum vulgare</i>	[12]
F25; e LG53	<i>F. decemcellulare</i>	<i>Mahonia fortunei</i>	[6, 12, 13]
CN1896232A; CN101240249A	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Ginkgo biloba; Dioscorea zingiberensis</i>	[10]

9. DISCUSSÃO

O gênero *Fusarium* vem se destacando na capacidade de biossintetizar compostos metabólicos com diversidade estrutural e bioatividade [13]. Tal capacidade, impulsionada por uma rica variedade de cepas presentes no gênero resulta em compostos metabólicos como alcalóides, jasmonatos, antranilatos, peptídeos cíclicos e terpenóides. Sua diversidade química vem se mostrando como uma base ampla para a gama de atividades biológicas presentes nesse gênero, tornando-o foco de interesse em diversas áreas desde o desenvolvimento de novos fármacos até aplicações biotecnológicas [1].

Os metabólitos secundários extraídos de espécies do gênero *Fusarium*, possuem uma variedade de atividades biológicas promissoras, incluindo propriedades antimicrobianas, antitumorais, antivirais e imunomoduladoras [8]. A elucidação dos mecanismos de ação e dos caminhos biossintéticos desses compostos é importante para o desenvolvimento de novas terapias na área da saúde. Uma compreensão detalhada dos genes envolvidos na biossíntese pode permitir à engenharia metabólica a produção em larga escala e sua possível distribuição e comercialização [6, 12, 13]. Abordagens inovadoras como OSMAC (One Strain Many Compounds), espectrometria de massa e o co-cultivo têm sido utilizadas na indução da produção dos metabólitos que normalmente não são expressos, revelando um potencial inexplorado do gênero. Tais metodologias oferecem novas perspectivas e melhorias na exploração de compostos bioativos [6, 7, 13].

Embora o gênero apresente um potencial biotecnológico, é importante ressaltar que existem preocupações quanto aos impactos ambientais que possam ser acarretados. Algumas espécies de *Fusarium* são conhecidas por produzir micotoxinas nocivas à saúde humana e animal [5]. A presença dessas micotoxinas requer monitoramento e regulamentação rigorosos quanto a sua produção e distribuição, já que alguns metabólitos podem apresentar fitotoxicidade [1, 14].

Estratégias como a regulamentação de fatores ambientais, regulação transcricional, regulação epigenética, deleção e superexpressão de genes, além da utilização de co-cultivos são empregadas para ativação de genes silenciosos. Tecnologias “ômicas” e fermentação também desempenham um papel relevante na compreensão e manipulação dos processos de biossíntese, bem como a produção em larga escala dos metabólitos secundários extraídos a partir de fungos desse gênero [6, 13].

Apesar dos avanços na compreensão do gênero *Fusarium* envolvendo metabólitos secundários, observou-se que muitos dos artigos analisados apresentaram lacunas metodológicas relevantes, especialmente no que diz respeito à padronização de extração e à ausência de detalhamento sobre o processo de obtenção das frações fúngicas. Na maior parte dos estudos não foi mencionada dados como tipos de substrato utilizado, tempo de fermentação, condições ambientais

de cultivo ou proporções exatas dos solventes empregados. Apenas quatro dos treze artigos incluídos nesta revisão descreveram com clareza o método partição líquido-líquido, além dos processos de rotaevaporação e liofilização dos extratos, enquanto os demais limitaram-se apenas a relatar a obtenção dos compostos. A falta de meios para reprodutibilidade metodológica compromete significativamente a comparação entre estudos e dificulta o avanço no processo de validação científica desses metabólitos.

A ausência de dados toxicológicos robustos e de ensaios *in vivo* que comprovem a segurança e eficácia dos compostos em modelos animais ou clínicos, mostra-se como um desafio recorrente, embora os estudos demonstrem potenciais atividades antimicrobianas, antitumorais e antivirais, poucos artigos avançam para a análises farmacocinéticas, biodisponibilidade ou avaliação da toxicidade aguda e crônica dos extratos. Uma lacuna crítica quando se considera a transição de compostos bioativos do laboratório para o uso clínico.

Dessa forma, o gênero *Fusarium* é uma fonte rica e promissora para extração de metabólitos secundários com aplicações biotecnológicas e terapêuticas. Entretanto, é crucial abordar os desafios relacionados aos avanços nesses estudos.

10. CONCLUSÃO

As frações metabólicas extraídas a partir do gênero *Fusarium* têm despertado alto interesse comercial, devido às suas potenciais ações como agentes antimicrobianos, antifúngicos, anti-inflamatórios e anticancerígenos, com implicações diretas para a biotecnologia e a nanotecnologia.

Este trabalho destacou a relevância dos metabólitos secundários de *Fusarium* na pesquisa biomédica, apontando para o seu potencial inexplorado na criação de novos tratamentos e terapias. A aplicação desses compostos na saúde, especialmente em contextos antimicrobianos e anticancerígenos, sugere uma área fértil para futuras investigações. No entanto, a toxicidade de alguns desses metabólitos também exige estudos adicionais para garantir a segurança e a eficácia em aplicações terapêuticas.

11. REFERÊNCIAS

1. ZHOU, Z.-Y., LIU, X., CUI, J.-L., WANG, J.-H., WANG, M.-L., & ZHANG, G. (2022). Endophytic fungi and their bioactive secondary metabolites in medicinal leguminosae plants: nearly untapped medical resources. *FEMS Microbiology Letters*, 369(1). doi.org/10.1093/femsle/fnac052
2. XU, M.; HUANG, Z.; ZHU, W., LIU, Y.; BAI, X.. *Fusarium*-Derived Secondary Metabolites with Antimicrobial Effects. V. 28, n. 8, p. 3424–3424, 13 abr. 2023. Doi.org/10.3390/molecules28083424
3. BCC PUBLISHING. **BCC Research LLC**. Disponível em: <<https://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/microbial-products-technologies-applications-and-global-markets-report.html>>.
4. GASSER, K., SULYOK, M., SPANGL, B., KRSKA, R., STEINKELLNER, S., & HAGE-AHMED, K. (2023). *Fusarium proliferatum* secondary metabolite profile in vitro depends on the origin of the isolates and is clearly reduced in stored garlic. *Postharvest Biology and Technology*, 200, 112312. Doi.org/10.1016/j.postharvbio.2023.112312
5. PROSPER AMUZU et al. Recent Updates on the Secondary Metabolites from *Fusarium* Fungi and Their Biological Activities (Covering 2019 to 2024). **Journal of Fungi**, v. 10, n 11, p. 778-778, nov. 2024. doi.org/10.3390/jof10110778.
6. CROUS, P. W. et al. *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. **Studies in Mycology**, v. 98, p. 100116, mar. 2021; doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100116.
7. WEI, J.; WU, B. Chemistry and bioactivities of secondary metabolites from the genus *Fusarium*. **Fitoterapia**, v. 146, p. 104638, out. 2020 doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104638.
8. ALVES, R. DE N. S. et al. Antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of secondary metabolites from *Fusarium* species. **OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA**, v. 22, n. 5, p. e4578, 8 maio 2024. Doi: 10.55905/oelv22n5-068.
9. TORRES-MENDOZA, D.; ORTEGA, H. E.; CUBILLA-RIOS, L. Patents on Endophytic Fungi Related to Secondary Metabolites and Biotransformation Applications. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 2, p. 58, 1 maio 2020. Doi:10.3390/jof6020058.
10. KUNDU, A.; Saha, S.; WALIA, S.; DUTTA, T.. Anti-nemic secondary metabolites produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris*. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 19, n. 3, p. 631–636, 18 jun. 2016. doi.org/10.1016/j.aspen.2016.06.003
11. WESTPHAL, K. R. et al. The effects of different potato dextrose agar media on secondary metabolite production in *Fusarium*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 347, p. 109171, jun. 2021. Doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109171.

12. Li, M., Yu, R., Bai, X., Wang, H., & Zhang, H. (2020). *Fusarium*: a treasure trove of bioactive secondary metabolites. *Natural Product Reports*, 37(12), 1568–1588. Doi.org/10.1039/D0NP00038H.

13. Ortega, H., Torres-Mendoza, D., Caballero E., Z., & Cubilla-Rios, L. (2021). Structurally Uncommon Secondary Metabolites Derived from Endophytic Fungi. *Journal of Fungi*, 7 (7), 570.

ANEXO A – NORMAS REVISTA

Brasília Journal of Microbiology (2.1):

Diretrizes para publicação:

<https://link.springer.com/journal/42770/submission-guidelines?IFA>

ANEXO B – SUBMISSÃO CAPÍTULO 2 - ARTIGO

Brazilian Journal of Microbiology

Fusarium derived secondary metabolites: bioactive potential and applications in health

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:		
Full Title:	Fusarium derived secondary metabolites: bioactive potential and applications in health	
Article Type:	Review	
Section/Category:	Biotechnology and Industry	
Funding Information:	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (001)	Not applicable
Abstract:	secondary metabolites obtained from fungi of the genus <i>Fusarium</i> have shown to be an attractive field for studies, as a promising source of bioactive compounds with potential applications in health and pharmacological production (antimicrobial, antifungal, anti-inflammatory and anticancer). Thus, the objective of this paper was to prospect the main groups of secondary metabolites found from fungal extracts of the genus <i>Fusarium</i> and their applications in health field. To achieve the proposed objective, an analytical review was conducted in the literature (scientific articles published in the period of 2019-2024) using open-access databases (PubMed, Cochrane Library, ScienceDirect and Google Scholar).	
Corresponding Author:	Marllen Santos Silva, Graduate Federal University of Maranhao: Universidade Federal do Maranhao BRAZIL	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Federal University of Maranhao: Universidade Federal do Maranhao	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	Marllen Santos Silva, Graduate	
First Author Secondary Information:		
Order of Authors:	Marllen Santos Silva, Graduate Marllen Santos da Silva, Graduate Laís Araujo Souza Wolff, Graduate Allysson Kayron Carvalho Silva, masters degree Marcelo Souza Andrade, Doctor Joselia Alencar Lima, Doctor Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento, Doctor Mayara Cristina Pinto da Silva, Doctor	
Order of Authors Secondary Information:		
Author Comments:		