



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS



MILLER SANTOS FERREIRA

**ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA ANTI-INFLAMATÓRIA E ESTUDOS QSAR
DE FUNGOS ENDOFÍTICOS OBTIDOS EM FOLHAS DE *POINCIANELLA*
PLUVIOSA (SIBIPIRUNA)**

ALFENAS/MG

2021

MILLER SANTOS FERREIRA

**ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA, ANTI-INFLAMATÓRIA E ESTUDOS
QSAR DE FUNGOS ENDOFÍTICOS OBTIDOS EM FOLHAS DE
POINCIANELLA PLUVIOSA (SIBIPIRUNA)**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química pelo Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Alfenas-MG.
Área de concentração: Química Orgânica
Orientadora: Prof^a Dr^a Marisi Gomes Soares

ALFENAS/MG

2021

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Ferreira, Miller Santos .

Atividade antiparasitária anti-inflamatória e estudos QSAR de fungos endofíticos obtidos em folhas de *Poincianella pluviosa* (sibipiruna) / Miller Santos Ferreira. - Alfenas, MG, 2022.

179 f. : il. -

Orientador(a): Marisi Gomes Soares .

Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Produtos Naturais . 2. Anti-inflamatórios . 3. Modelo preditivo QSAR.
4. Quimiometria . 5. Espectrometria de Massas . I. Soares , Marisi Gomes , orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

MILLER SANTOS FERREIRA

**“ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA, ANTI-INFLAMATÓRIA E ESTUDOS
QSAR DE SUBSTÂNCIAS OBTIDAS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE
FOLHAS DE *Poincianella pluviosa* (SIBIPIRUNA)”**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Orgânica.

Aprovado em: 22 de novembro de 2022

Profa. Dra. Marisi Gomes Soares - Presidente e Orientadora
Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL)

Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho
Instituição: Universidade federal do Amapá (UNIFAP)

Profa. Dra. Maique Weber Biavatti
Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Prof. Dr. João Henrique Lago
Instituição: Universidade Federal do ABC (UFABC)

Profa. Dra. Jaine Honorata Hortolan Luiz
Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL)



Documento assinado eletronicamente por **Marisi Gomes Soares, Professor do Magistério Superior**, em 23/11/2022, às 15:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jaine Honorata Hortolan Luiz, Professor do Magistério Superior**, em 23/11/2022, às 15:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Joao Henrique Ghilardi Lago, Usuário Externo**, em 23/11/2022, às 15:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jose Carlos Tavares Carvalho, Usuário Externo**, em 23/11/2022, às 17:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maique Weber Biavatti, Usuário Externo**, em 01/12/2022, às 15:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0859419** e o código CRC **76FDD006**.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Chegar até aqui não foi fácil, mas teria sido impossível se eu não tivesse a ajuda de pessoas que de forma direta ou indireta participaram na conquista desta vitória. Se momentaneamente a memória tiver falhado e tiver esquecido de alguém, perdoem-me e tenham certeza que lhes sou grato, mesmo sem seu nome estar citado aqui. Sendo assim agradeço:

Á Deus sobre tudo; Por me conceder saúde, perseverança e coragem nos momentos mais difíceis; A toda minha família em especial minha mãe Marisi e meu pai Cezar que estiveram sempre ao meu lado apoiando-me e proporcionando todo suporte em todos os momentos de minha jornada; A minha esposa Tatiana Gonçalves por sempre acreditar no meu potencial. Aos meus amigos e companheiros de pesquisa Albert, Mário, Karen e João, sem vocês essa conquista não seria possível. Compartilharam de seus conhecimentos me orientando em todos os momentos, serei eternamente grato pelo carinho e pela amizade; Aos meus irmãos de caminhada Lucas Sartori, Carlos Neto e Felipe Westin, pelos conselhos e o companheirismo;

A estimada e querida Professora Doutora Marisi Gomes Soares, por ter me orientado e sempre contribuído para meu desenvolvimento intelectual e profissional; Ao grupo do LFQM, por receber a todos os alunos com muito respeito e carinho! Agradeço também às professoras Doutoras Daniela Chagas e Danielle Dias por todos os ensinamentos compartilhados no laboratório, pelos conselhos sábios e pelo empenho profissional que sempre contribuíram para o aperfeiçoamento e a formação de todos os alunos. Obrigado por tudo! Agradeço a cada amigo e colega que passou pelo LFQM ao longo desses quatro anos, é um privilégio fazer parte desta equipe. Enfim ,agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Química e à Universidade Federal de Alfnas (UNIFAL-MG), por todo suporte.

Obrigado a todos!

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes.”

RESUMO

Fungos endofíticos são aqueles que habitam espécies vegetais e estabelecem uma relação de endossimbiose, na qual auxiliam a planta hospedeira quanto a patógenos, doenças, e estresses abióticos em troca de nutrientes. Estes microrganismos são fontes de metabólitos secundários, que são foco de estudo na ciência de produtos naturais devido aos seus potenciais biológicos. O presente estudo realizou uma revisão sistemática sobre fungos endofíticos do gênero *Aspergillus sp*, o qual apresentou um grande número de metabólitos (230) com propriedades anti-inflamatória descritos na literatura. Dentre os compostos observados, quatro apresentaram inibição multialvo das principais vias pró-inflamatórias. Um banco de dados com moléculas anti-inflamatórias do gênero foi desenvolvido e um modelo de aprendizado de máquina QSAR para prever a inibição do óxido nítrico (NO) na via inflamatória foi criado. As folhas da espécie *Poincianella pluviosa* (Sibipiruna) foram coletadas e extratos e frações de fungos endofíticos, foram avaliados para a atividade anti-inflamatória (*ex vivo*) e antiparasitária (*in vivo*). Os extratos FPD4 e FPD13 apresentaram moderada atividade anti-inflamatória pela inibição de PGE₂ em 87.25% e 77.72%, respectivamente. Os extratos FPD4 e FPD13 foram analisados em HPLC-MS, sendo possível realizar a anotação dos compostos através dos espectros MS1 e MS2. Um total de 81 substâncias foram desreplicadas utilizando banco de dados internos e 3 substâncias (Nigrosporolide, tirosol e decarestrictina A) foram isoladas e caracterizadas por técnicas espectroscópicas (RMN) e espectrométricas (UHPLC-MS/MS). Análises realizadas com extrato bruto FPD13 mostraram que as concentrações de 4 e 2 mg/mL do extrato, inibiram a eclosão larval dos ovos de *Haemonchus contortus* em 100%. A cepa de FPD13 foi isolada e classificada como *Nigrospora. Zirmini* através das características morfológicas e sequenciamento da região ITS (“Internal Transcribed Spacer”) com análise filogenética (sequências de referência do GenBank). Uma revisão clássica sobre o gênero de fungo endofítico monofilético *Nigrospora* demonstrou a existência de 271 metabólitos bioativos descritos na literatura, sendo pertencentes a 21 diferentes espécies/culturas do gênero. Além disso, os policetídeos, alcalóides e butenolídeos demonstraram ser as principais classes de metabólitos secundários descritos em fungos endofíticos.

Palavras-chave: desreplicação; produtos naturais; quimiometria; modelo QSAR;

fungos endofíticos.UHPLC-MS/MS; inflamação; antiparasitário.

ABSTRACT

Endophytic fungi are those that inhabit plant species and establish an endosymbiosis relationship, in which they assist the host plant against pathogens, diseases, and abiotic stresses in exchange for nutrients. These microorganisms are sources of secondary metabolites, which are the focus of study in natural product science due to their biological potentials. The present study performed a systematic review on endophytic fungi of the genus *Aspergillus sp.*, which presented a large number of metabolites (230) with anti-inflammatory properties described in the literature. Among the compounds observed, four showed multitarget inhibition of the main pro-inflammatory pathways. A database of anti-inflammatory molecules from the genus was developed and a QSAR machine learning model to predict nitric oxide (NO) inhibition of the inflammatory pathway was created. Leaves of the species *Poincianella pluviosa* (Sibipiruna) were collected and extracts and fractions of endophytic fungi, were evaluated for anti-inflammatory (ex vivo) and antiparasitic (in vivo) activity. Extracts FPD4 and FPD13 showed moderate anti-inflammatory activity by inhibiting PGE₂ by 87.25% and 77.72%, respectively. FPD4 and FPD13 extracts were analyzed in HPLC-MS, and compound annotation was possible by MS1 and MS2 spectra. A total of 81 substances were dereplicated using internal database and 3 substances (Nigrosporolide, tirosol and decarestrictin A) were isolated and characterized by spectroscopic (NMR) and spectrometric (UHPLC-MS/MS) techniques. Analyses performed with crude extract FPD13 showed that concentrations of 4 and 2 mg/mL of the extract, inhibited the larval hatching of *Haemonchus contortus* eggs by 100%. The strain of FPD13 was isolated and classified as *Nigrospora*. Zimmmini by morphological characteristics and sequencing of the ITS (Internal Transcribed Spacer) region with phylogenetic analysis (GenBank reference sequences). A classical review on the monophyletic genus *Nigrospora* demonstrated the existence of 271 bioactive metabolites described in the literature, belonging to 21 different species/cultures of the genus. In addition, polyketides, alkaloids and butenolides have been shown to be the main classes of natural products described in endophytic fungi. Endophytic fungi are those that inhabit plant species and establish an endosymbiosis relationship, in which they assist the host plant against pathogens, diseases, and abiotic stresses in exchange for nutrients. These microorganisms are sources of secondary metabolites, which are the focus of study in

natural product science due to their biological potentials. The present study performed a systematic review on endophytic fungi of the genus *Aspergillus sp.*, which presented a large number of metabolites (230) with anti-inflammatory properties described in the literature. Among the compounds observed, four showed multitarget inhibition of the main pro-inflammatory pathways. A database of anti-inflammatory molecules from the genus was developed and a QSAR machine learning model to predict nitric oxide (NO) inhibition of the inflammatory pathway was created. Leaves of the species *Poincianella pluviosa* (Sibipiruna) were collected and extracts and fractions of endophytic fungi, were evaluated for anti-inflammatory (ex vivo) and antiparasitic (in vivo) activity . Extracts FPD4 and FPD13 showed moderate anti-inflammatory activity by inhibiting PGE₂ by 87.25% and 77.72%, respectively. FPD4 and FPD13 extracts were analyzed in HPLC-MS, and compound annotation was possible by MS1 and MS2 spectra. A total of 81 substances were dereplicated using internal database and 3 substances (Nigrosporolide, tirosol and decarestrictin A) were isolated and characterized by spectroscopic (NMR) and spectrometric (UHPLC-MS/MS) techniques. Analyses performed with crude extract FPD13 showed that concentrations of 4 and 2 mg/mL of the extract, inhibited the larval hatching of *Haemonchus contortus* eggs by 100% .The strain of FPD13 was isolated and classified as *Nigrospora*. Zirmmini by morphological characteristics and sequencing of the ITS (Internal Transcribed Spacer) region with phylogenetic analysis (GenBank reference sequences). A classical review on the monophyletic genus *Nigrospora* demonstrated the existence of 271 bioactive metabolites described in the literature, belonging to 21 different species/cultures of the genus. In addition, polyketides, alkaloids and butenolides have been shown to be the main classes of natural products described in endophytic fungi.

Keywords: dereplication; natural products; chemometrics; QSAR model; endophytic fungi; UHPLC-MS/MS; inflammation; antiparasitic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Inoculação de cortes quadrangular de Folhas de <i>P.pluviosa</i> em meio PDA.	36
Figura 2- Inoculação de cortes em formato quadrangular de Folhas de <i>P.pluviosa</i> em meio PDA..	37
Figura 3- Manifold LC-18 -SPE (Extração Fase Sólida).....	33
Figura 4- Fracionamento de Extratos de fungos	39
Figura 5- Número de publicações de metabólitos anti-inflamatórios isolados de <i>Aspergillus sp.</i>	49
Figura 6- A porcentagem de metabólitos anti-inflamatórios de diferentes espécies de <i>Aspergillus</i> ...	50
Figura 7- Metabólitos com atividade anti-inflamatória em espécies de <i>Aspergillus</i>	52
Figura 8- Diagrama de Venn com as substâncias anti-inflamatórias relatadas de <i>Aspergillus</i>	52
Figura 9- As principais vias de ação dos compostos multi-alvos	53
Figura 10- Cromatograma HPLC-UV-DAD do extrato do fungo FPD4 em 260 nm	66
Figura 11- Espectro de massas MS1/MS2 do ciclopeptídeo Ciclo-Phe-Leu-Leu-Leu-Ile.	68
Figura 12- Cromatograma HPLC-UV-DAD do extrato FPD13 em 254 nm..	69
Figura 13- Cromatograma UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS fração II	77
Figura 14- Espectro de massas fração II UPLC-ESI-QTOF-MS1/MS2, do nigrosporolide.....	70
Figura 15- Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos Isolados.	79
Figura 16- Espectros de RMN de ^{13}C e DEPT135	80
Figura 17- Cromatograma UPLC-ESI-QTOF-MS/MS do extrato FPD13/Fração II.....	81
Figura 18- Espectro de massas UPLC-ESI-QTOF-MS1/MS2 do tirosol.....	82
Figura 19- Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do tirosol.	83
Figura 20- Cromatograma UPLC-ESI-QTOF-MS/MS Extrato FPD13.....	84
Figura 21- Espectro de massas MS1/modo negativo, fração II	85
Figura 22- Espectro de massas MS1/modo positivo, fração II	86
Figura 23- Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C da decarestrictina A.....	87
Figura 24- Compostos isolados e identificados do extrato FPD13	89
Figura 25- Rede Neural Artificial (ANN) Treinado no Weka.....	104

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Atividade anti-inflamatória dos extratos de fungos endofíticos.....	91
Gráfico 2- Atividade anti-inflamatória do extrato FDP13 e fração II	92
Gráfico 3- Efeito anti-helmíntico <i>in vitro</i> do extrato FDP13	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Protocolo de preparação PBS (pH 7.2; 0,15 M cloreto;0.01 M fosfato).....	43
Tabela 2- Rendimento dos extratos de fungos endofíticos	64
Tabela 3- Desreplicação dos compostos do extrato FPD4.....	67
Tabela 4- Desreplicação de dados por comparação com BDI	70
Tabela 5- Dados de RMN ¹ H (300 MHz) e ¹³ C (75 MHz) do tirosol em DMSO.	84
Tabela 6- Dados de RMN ¹ H (300 MHz) e ¹³ C (75 MHz) da decarestrictina A.....	88
Tabela 7- Porcentagem de inibição de PGE ₂ do ensaio anti-inflamatório <i>ex vivo</i>	90
Tabela 8- Teste de comparações múltiplas de Dunnett, dos extratos avaliados.....	91
Tabela 9- Teste de comparações múltiplas de Dunnett, do extrato FPD13 fração II	93
Tabela 10- Teste de Inibição da eclosão larval do extrato FPD13	93
Tabela 11- Valores de IC ₅₀ e pIC ₅₀ encontrados na literatura para inibição de NO.....	95
Tabela 12- Descritores selecionados e suas definições.....	98
Tabela 13- Cálculo de pIC ₅₀ , valores para o conjunto de teste <i>Aspergillus</i>	100
Tabela 14- Cálculo de pIC ₅₀ , valores para o conjunto de treino de <i>Aspergillus</i>	96
Tabela 15- Valores de R ² , Q ² , and P ² para o modelo de predição ANN	103
Tabela 16- Domínio de Aplicabilidade com valores de APD.....	105

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A- Fluxo Prisma da revisão sistemática de metabólitos secundários .	119
ANEXO B- Distribuição geográfica e região de coleta mundial de <i>Aspergillus sp</i>	120
ANEXO C- Bases de dados e o número de referências consultadas	120
ANEXO D- Banco de dados de produtos químicos anti-inflamatórios de <i>Aspergillus</i> .	121
ANEXO E- Países, estudos e localizações geográficas naturais de <i>Aspergillus sp</i> .	140
ANEXO F- Padrões químicos de alcalóides.	143
ANEXO G- Padrões químicos de policetídeos.	145
ANEXO H- Padrões químicos de terpenóides.	148
ANEXO I- Padrões químicos de butenolídeos.	153
ANEXO J- Outros padrões químicos de metabólitos secundários (esteróides)	154
ANEXO L- Outros padrões químicos de (ácidos orgânicos e fenólicos).	155
ANEXO M- Árvore filogenética e características morfológicas do isolado FPD13	157
ANEXO N - Banco de Dados Interno (BDI) <i>Nigrospora Sp.</i>	158
ANEXO O- Cromatogramas HPLC-UV-DAD dos extratos de fungos endofíticos.	173

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido araquidônico
AACD	Banco de dados químicos anti-inflamatórios <i>Aspergillus</i>
ACN	Acetonitrila
AIEs	Anti-inflamatórios esteroidais
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
ANOVA	Análise de variância - Erro médio padrão
ANN	Rede Neural Artificial
AKN	Albert Katchiborian Neto
CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
COX	Ciclooxigenase
d	Dubleto
DA	Domínio de Aplicabilidade
DAD	Detector ultravioleta-visível com arranjo de diodos
dd	Duplo dubleto
DEPT	<i>Distortion Leds Enhancement by Polarization transfer</i>
DMSO- <i>d</i> 6	Dimetilsufóxido deuterado
DNP	<i>Dictionary of Natural Products</i>
EBS	Extratos Brutos
ESI	Ionização por electrospray
EHT	<i>Egg Hatching test</i>
ETOH	Etanol
FPD13	Fungo 13 em meio de cultura batata dextrose
FPD4	Fungo 4 em meio de cultura batata dextrose
FM	Fórmula molecular
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HRMS	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
Hz	<i>Hertz</i>

IA	Inteligência Artificial
IC ₅₀	Concentração inibitória meia-máxima
IL-1 β	Interleucina-1 β
IL-6	Interleucina-6
IL-9	Interleucina-9
IFN	Interferon
ITS	<i>Internal Transcribed Spacer</i>
JCC	Jonas Carneiro Cruz
KJN	Karen de Jesus Nicácio
LC	<i>Liquid Chromatography</i>
LOX	Lipoxigenase
LTB ₄	Leucotrieno B ₄
LESF	Laboratório de Ecologia e Sistemática de Fungos
LFQM	Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal
LSQ	Limite Superior de Qualificação
MeOH	Metanol
MIC	Concentração Inibitória Mínima
<i>m/z</i>	Massa/carga
MOPAC	<i>Molecular Orbital PACKage</i>
MSF	Miller Santos Ferreira
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
NOS	Óxido Nítrico Sintase
NO	Óxido Nítrico
nNO	Óxido Nítrico Sintase Neural
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Eptelial
iNOS	Óxido Nítrico Sintase Induzível
NP	Produtos Naturais
PBS	Solução tampão padrão
PGs	Prostaglandinas
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PLA ₂	Fosfolipase A ₂
P ²	Coeficiente de correlação ao quadrado
PDA	Agar Dextrose Batata

PTFE	Politetrafluoretileno(Membrana)
PD	Batata Dextrose
Q ²	Coeficiente de variação preditiva ao quadrado
QSAR	<i>Quantitative structure-activity relationship</i>
R ²	<i>Square of the correlation coefficient ('goodness of fit')</i>
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RT	Tempo de Retenção
SEM	Monitoramento da reação selecionada
S	Singleto
t	Tripleto
TEO	Teste de inibição da eclosão larval
TOF	<i>Time-of-flight</i>
TNF- α	Fator de necrose Tumoral- α
t _R	Tempo de retenção
UPLC	<i>Ultra-Performance Liquid Chromatography</i>
UV	Ultra Violeta
VIS	Visível
δ_C	Deslocamento químico do carbono
δ_H	Deslocamento químico do hidrogênio
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS	21
1.2	AGENTES ANTI-INFLAMATÓRIOS E FUNGOS ENDOFÍTICOS.	23
1.3	ESTUDOS QUIMIOMÉTRICOS.....	29
2	OBJETIVOS	31
2.1	OBJETIVO GERAL	31
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	31
3	METODOLOGIA	32
3.1	REVISÃO SISTEMÁTICA E CLÁSSICA.....	32
3.1.1	Estratégias de busca e critérios padrões	32
3.1.2	Critérios de elegibilidade	33
3.1.3	Extração de dados	33
3.1.4	Diagrama, mapa e gráficos	34
3.1.5	Banco de dados químico <i>Aspergillus.sp</i>	34
3.2	REVISÃO CLÁSSICA <i>NIGROSPORA</i>	34
3.2.1	Banco de dados químico <i>Nigrospora.sp</i>	34
3.3	FITOQUÍMICA	35
3.3.2	Reagentes e Solventes	35
3.3.3	Meios de cultura	35
3.3.4	Material vegetal.....	35
3.3.5	Isolamento e preservação dos fungos endofíticos	36
3.3.6	Classificação e anotação dos fungos.....	37
3.3.7	Obtenção dos extratos brutos.....	37

3.3.8 Seleção dos fungos endofíticos para estudo químico	38
3.3.9 Fracionamento dos extratos brutos (EB)	38
3.3.10.1 Cromatografia em camada delgada (CCD).....	39
3.3.10.2 Cromatografia líquida de alta performance (HPLC)	39
3.3.11 Técnicas espectroscópicas e espectrométricas	40
3.3.11.1 Ressonância magnética nuclear (RMN de ¹ H e ¹³ C).....	40
3.3.11.2 Espectrometria de massas (MS)	40
3.3.16 Desreplicação dos extratos	41
3.3.17 Outros materiais	41
3.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS	42
3.4.1 Atividade anti-inflamatória <i>ex vivo</i>	42
3.4.1.1 Quantificação de prostaglandina E ₂ (PGE ₂)	43
3.4.2 Atividade antiparasitária	44
3.4.2.1 Teste de eclosão larval (TEO OU EHT).....	44
3.5 QUIMIOMETRIA.....	45
3.5.1 Banco de dados estrutural <i>Aspergillus</i>	45
3.5.2 Cálculo de descritores moleculares	45
3.5.3 Estudos de QSAR	46
3.5.4 Modelos de aprendizado de máquina	47
3.5.5 Domínio de aplicabilidade	47
4. RESULTADOS	49
4.1 REVISÃO SISTEMÁTICA <i>ASPERGILLUS</i>	49
4.1.1 Estudos característicos de busca em bancos de dados	49
4.1.2 Cultivo e metabólitos de <i>Aspergillus sp</i>	50
4.1.3 Metabólitos anti-inflamatórios de <i>aspergillus</i>	51
4.1.4 Principais compostos anti-inflamatórios	54
4.1.5 Compostos multi-alvos <i>Aspergillus</i>	55

4.1.6	Comparação com outros estudos	58
4.1.7	Limitações	59
4.1.8	Direções futuras	60
4.2	REVISÃO CLÁSSICA <i>NIGROSPORA</i>	60
4.2.1	Atividade biológica <i>Nigrospora</i>	60
4.3	REPLICAÇÕES, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO	64
4.3.1	Identificação do extrato FPD13	65
4.4.	FITOQUÍMICA	66
4.4.1	Análises, isolamento e caracterização de metabólitos dos extratos	66
4.4.2.1	Extrato FPD4.....	66
4.4.3	Extrato FPD13	69
4.5	ENSAIOS BIOLÓGICOS	89
4.5.1	Atividade anti-inflamatória	89
4.5.2	Análise estatística da atividade anti-inflamatória	90
4.5.3	Atividade antielmíntica	93
4.6	QUIMIOMÉTRICA “DATASET ASPERGILLUS”	95
4.6.1	Modelos de aprendizado de máquina e QSAR	95
4.6.2	Domínio de aplicabilidade (DA)	104
5	CONCLUSÃO	106
5.1	REVISÃO SISTEMÁTICA ASPERGILLUS	106
5.2	REVISÃO CLÁSSICA <i>NIGROSPORA</i>	106
5.3	FITOQUÍMICA E BIOATIVIDADE	107
5.4	MODELO QSAR ANTI-INFLAMATÓRIO	107
5.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	108
	REFERÊNCIAS	109
	ANEXOS	119

1 INTRODUÇÃO

1.1 QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS

As Plantas são fontes abundantes de compostos bioativos que possuem perfis químicos característicos, e são estruturalmente diferentes do ponto de vista molecular, compondo uma vasta biodiversidade estrutural, o qual é objetivo de muitos estudos na área de produtos naturais e nas pesquisas e desenvolvimentos de novos fármacos (MA *et al.*, 2022). No entanto, muitas plantas apresentam fatores limitantes para sua escalabilidade, como por exemplo, localização geográfica pouco acessível, habitats incomuns; ameaças ambientais, ataque de predadores e etc. No caso do cultivo das plantas, uma baixa taxa de crescimento e maior tempo para a obtenção, muitas vezes são os principais fatores limitantes. (DOMINGOS *et al.*, 2019). Tentativas de se utilizar estratégias de semi-sínteses, vem apresentando grande complexidade (WAN *et al.*, 2022). Nestes casos, a obtenção de compostos ativos únicos e seu desenvolvimento em larga escala é de extrema dificuldade (DOMINGOS *et al.*, 2019; WAN *et al.*, 2022). Uma alternativa para esta problemática é a obtenção, isolamento e replicação de microrganismos endofíticos em plantas medicinais (BIBI *et al.*, 2020; FERREIRA *et al.*, 2021a; VASUNDHARA; SUDHAKARA REDDY; KUMAR, 2019).

Os diferentes microrganismos podem produzir uma variedade de constituintes biológicos estruturalmente iguais ou derivativos dos produzidos por vias biossintéticas em seus hospedeiros (SHAKOUR; FARAG, 2021). Neste sentido, tais constituintes podem ser um excelente substituto para obtenção de compostos naturais específicos (DOMINGOS *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2021b; SHAKOUR; FARAG, 2021; WAN *et al.*, 2022). A descoberta de medicamentos de fontes naturais está passando por um renascimento, tendo passado por muitas décadas à sombra de medicamentos derivados de moléculas sintéticas.(MA *et al.*, 2022; WAINWRIGHT *et al.*, 2022). A descoberta de novos alvos biológicos e o desenvolvimento de tecnologias de ponta aplicadas à caracterização de fármacos a partir de fontes naturais, vem crescendo cada vez mais (WAINWRIGHT *et al.*, 2022). Em estudos recentes, vários regimes terapêuticos à base de plantas como *Allium sativum*, *Camellia sinensis*, *Zingiber officinale*, *Nigella sativa*, *Hypericum perforatum*, *Glycyrrhiza glabra* e *Scutellaria baicalensis*, foram explorados para aumentar a resposta imunológica de pacientes

infectados com SARS-CoV-2, possuindo diferentes formas de terpenóides aparentemente com um efeito potencial na inibição da replicação viral, podendo ser usado em futuras investigações (RAMAN *et al.*, 2022).

A exploração de produtos naturais como agentes bioativos tem levado ao desenvolvimento de uma infinidade de medicamentos, como por exemplo, o medicamento anticancerígeno vincristina de *Vinca rosea*, morfina analgésica narcótica de *Papaver somniferum*, medicamento antimalárico artemisinina de *Artemisia annua*, o anticancerígeno Taxol® da *Taxus brevifolia* e o antibiótico penicilina da *Penicillium chrysogenum* são vários exemplos representativos (WAN *et al.*, 2022). Os produtos naturais são tipicamente classificados de acordo sua origem biossintética, possuindo diversas rotas metabólicas, muitas vezes chamadas de vias especializadas, sendo elucidadas em grupos de organismos taxonomicamente restritos, (O'CONNOR, 2020). Desde tempos imemoriais, plantas medicinais e compostos bioativos naturais têm se mostrado potentes contra a maioria das doenças, incluindo as inflamatórias (DE ALCÂNTARA *et al.*, 2021; DOMINGOS *et al.*, 2019). Numerosos pesquisadores têm trabalhado incessantemente em extratos de plantas medicinais para explorar seus efeitos biológicos, por meio de estudos *in vitro* e *in vivo* e na identificação e caracterização dos principais compostos naturais responsáveis pela bioatividade (BARMAN; NATH; THAKUR, 2020; GANDHI *et al.*, 2022; WAN *et al.*, 2022).

Um grande número de metabólitos secundários encontrados em plantas medicinais vem apresentando atividade analgésica e anti-inflamatória atuando em processos celulares que modulam a cascata inflamatória (CHAGAS-PAULA *et al.*, 2015a; ROSA *et al.*, 2021a). A maioria desses metabólitos atuam em processos celulares que propagam a inflamação de maneira semelhante aos anti-inflamatórios conhecidos (ROSA *et al.*, 2021a) Estudos demonstraram que produtos fitoterápicos manipulados para o tratamento de diferentes patologias como Inflamações e cicatrização em feridas, são de grande eficácia sendo adequados e acessíveis para uso (NIGUSSIE *et al.*, 2021). Apesar da eficácia das drogas sintéticas convencionais empregadas no tratamento da inflamação e outras patologias, diversos efeitos colaterais à saúde humana vem sendo apresentados (GANDHI *et al.*, 2022) . Neste sentido, são necessárias abordagens mais modernas como isolamento direcionado através de métodos analíticos e computacionais em conjunto, para a descoberta de compostos naturais com menores efeitos colaterais e maior eficácia, resultando assim em uma maior rapidez e economia na busca e desenvolvimento de novos fármacos.

1.2 AGENTES ANTI-INFLAMATÓRIOS, ANTIPARASITÁRIOS E FUNGOS ENDOFÍTICOS.

A inflamação é coordenada por uma ampla gama de mediadores como óxido nítrico (NO), interleucina-1 β , interleucina-6, interleucina-9, fator de necrose tumoral- α (TNF- α), e prostaglandinas (PGE₂), que formam redes regulatórias complexas, algumas delas envolvidas em vias pró-inflamatórias, como aminas vasoativas, eicosanóides, citocinas, quimiocinas e fragmentos do complemento, que representam potenciais alvos para o desenvolvimento de novos medicamentos anti-inflamatórios (MEDZHITOV, 2010; NIGUSSIE *et al.*, 2021). Estudos demonstram que o número de publicações relatando compostos ativos anti-inflamatórios isolados de endofíticos estão cada vez mais presentes na literatura (FERREIRA *et al.*, 2021a; GAUTAM *et al.*, 2022; OLA *et al.*, 2021; TOGHUEO, 2019). Por exemplo, Kuang *et al.* obtiveram e avaliaram 19 hidroantraquinonas de *Nigrospora. Saphaedrica*, isoladas da planta *Cordyceps sinensis* para testar seu potencial anti-inflamatório. Nigroquinona D, exibiu atividade inibitória significativa de NO (IC₅₀ = 7,2 μ M) em um RAW induzido por LPS264.7 ensaio de macrófagos. Além disso, efeitos inibitórios promissores sobre as vias de sinalização de NF- κ B já foram evidenciados por análise transcriptômica (KUANG *et al.*, 2022).

Vários estudos *in vitro* reportados na literatura envolvendo extratos e substâncias isoladas de fungos endofíticos do gênero *Aspergillus.sp*, têm demonstrado atividade anti-inflamatória por mecanismos de inibição da via da cascata do ácido araquidônico, ativação de NF- κ B, liberação de mediadores pró-inflamatórios, enzimas, citocinas e diferentes interleucinas pró-inflamatórias. por exemplo, IL-1 β e IL-6 (Tian *et al.* 2015; Kim *et al.* 2016; Kwon *et al.* 2017; Liao *et al.* 2018). Neste contexto, a inflamação é uma resposta fisiológica protetora para controlar possíveis agentes nocivos no organismo (DOMINGOS *et al.*, 2019; PURATCHIKODY; DOBLE, 2007; RHEN; CIDLOWSKI, 2005). O processo inflamatório geralmente é desencadeado por danos iniciais em tecidos vivos que podem ser lesados pela presença de microrganismos, traumas, alguns tipos de neoplasias, toxinas, calor ou qualquer outra causa que possa desencadear uma resposta fisiológica. (COUSSENS; WERB, 2002; DU *et al.*, 2015; FIORUCCI *et al.*, 2001; LANDSKRON *et al.*, 2014).

As células ativadas regulam a fisiopatologia celular e molecular da inflamação através da produção de citocinas e mediadores como NO, IL-1 β , IL-6, IL-9, TNF- α e

PGE₂), que sabidamente estão envolvidas nos processos de doenças inflamatórias agudas e crônicas (DA SILVA *et al.*, 2020; EL-HAWARY *et al.*, 2020). Além disso, a cascata inflamatória do ácido araquidônico, que é mediada principalmente pelas enzimas ciclooxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX), e também pelas enzimas sintases terminais, desempenha um papel fundamental nas doenças inflamatórias (CHAGAS-PAULA *et al.*, 2015a; DING *et al.*, 2018; FIORUCCI *et al.*, 2001). Assim que secretadas, as moléculas inflamatórias criam um desequilíbrio no sistema imunológico que leva a uma série de patologias, como a deformidade óssea e à destruição de cartilagem (GANDHI *et al.*, 2022; NIEDBALA *et al.*, 2014). A patologia do processo inflamatório está associada a diversas doenças, como psoríase, gota, artrite, inflamação aguda, doenças autoimunes, diabetes, doenças neurodegenerativas e diversos tipos de câncer (CHAGAS-PAULA *et al.*, 2015b; DOMINGOS *et al.*, 2019; ROSA *et al.*, 2021a).

O óxido nítrico (NO) é um mediador crucial de uma série de funções biológicas, incluindo relaxamento vascular, agregação plaquetária, neurotransmissora, atividades tumoricidas e microbicidas, sendo associado a patologias imunológicas mais importantes, incluindo artrite reumatóide, diabetes, lúpus eritematoso sistêmico e choque séptico (NIEDBALA *et al.*, 2014). O óxido nítrico (NO) atua agindo como uma molécula de sinalização biológica, sendo produzido a partir de *L*-arginina pela enzima Óxido Nítrico Sintase (NOS), sendo identificada três isoformas desta enzima, a forma Neuronal (nNOS) responsável pela melhora da neurotransmissão nos neurônios, a forma epitelial (eNOS) responsável pela contração do músculo liso e tônus vascular e a NOS induzível (iNOS) ativado durante a resposta imunológica (LONG *et al.*, 2013). A forma induzível por citocina (iNOS ou NOS) é ativada por uma série de estímulos imunológicos, incluindo interferon- γ (IFN- γ), fator de necrose tumoral- α e LPS gerado durante a infecção, catalisando a alta produção de NO, que pode ser citotóxico e matar patógenos intracelulares (NIEDBALA *et al.*, 2014; TRUJILLO; TOVAR, 2008). Alguns estudos demonstraram que a ativação de NF- κ B e liberação de NO desempenham um papel crucial na inflamação das articulações e na progressão da artrite (GANDHI *et al.*, 2022). Assim, o estudo de fármacos inibidores de NOS são de extrema necessidade para aprimorar o arsenal de tratamentos farmacológicos anti-inflamatórios com maior eficácia e menores efeitos colaterais (GANDHI *et al.*, 2022; LONG *et al.*, 2013; NIEDBALA *et al.*, 2014).

As infecções parasitárias são um problema de saúde mundial, infectando cerca de um terço da população do planeta, devido à resistência da cepa do parasita a medicamentos disponíveis e os altos custos dos tratamentos (METTWALLY *et al.*, 2022). Mesmo com os avanços medicinais e tecnológicos das últimas décadas, doenças parasitárias ainda colocam em risco a saúde da população (GONÇALVES-SANTOS *et al.*, 2019; METTWALLY *et al.*, 2022). As doenças parasitárias em regiões tropicais e subtropicais como malária, leishmaniose, panossomíase (doença de Chagas), tripanossomíase africana, esquistossomose e outros são responsáveis pela morbidade e mortalidade de milhões de pessoas nestas regiões, sendo a malária responsável por 94% dos casos e mortes transmitida através das picadas de mosquitos fêmeas infectados *Anopheles* (MOSTAFA; AL-SHEHRI; MOUSTAFA, 2022). A doença de Chagas é outra doença parasitária generalizada ocorrendo em todo o mundo, causada pelo *Trypanosoma cruzi* e afetando cerca de 10 milhões de pessoas nas Américas, sendo transmitidas por vetores – insetos hematófagos (triatomíneos), transfusão, congênita e oral (GONÇALVES-SANTOS *et al.*, 2019) A maioria dos casos é fatal, em decorrência de uma cardiomiopatia infecciosa grave associada à polarização imunológica intensa e desequilibrada (GONÇALVES-SANTOS *et al.*, 2019; MOSTAFA; AL-SHEHRI; MOUSTAFA, 2022).

A leishmaniose é uma parasitose tropical cujo agente etiológico é o protozoário flagelado do gênero *Leishmania*. Esses parasitas são transmitidos pela picada de flebotomíneos contaminados, tendo como principais reservatórios (hospedeiros) humanos, mamíferos silvestres e cães (DOS SANTOS VARJÃO *et al.*, 2022). Cerca de 350 milhões de pessoas em 98 países estão em risco, com 12 milhões de casos conhecidos, sendo os medicamentos disponíveis para o tratamento escassos, com alto custo, alta toxicidade e ineficazes (BRAUN *et al.*, 2021). Infecções intestinais por nematóides (muitas vezes referidas como infecções por helmintos) estão entre as infecções parasitárias mais comuns em humanos, afetando mais de um quarto da população mundial (MOSTAFA; AL-SHEHRI; MOUSTAFA, 2022). Estudos recentes têm reafirmado a importância dos nematóides, particularmente *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e os ancilostomídeos *Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale*, principalmente em saúde e desenvolvimento infantil. (LOUKAS; MAIZELS; HOTEZ, 2021). A infecção intestinal por nematóides permanece uma das principais causas de atraso no crescimento físico, atraso cognitivo e desnutrição em grande parte do mundo em desenvolvimento, sendo as crianças as principais afetadas negativamente no

desempenho e frequência escolar, bem como sobre a produtividade futura (COSTA-JÚNIOR *et al.*, 2022; LOUKAS; MAIZELS; HOTEZ, 2021). Desta forma, é crucial explorar a descoberta ou desenvolvimento de novos fármacos antiparasitários de amplo espectro com menores custos e cada vez mais eficazes.

Os microrganismos podem afetar a existência e o desenvolvimento da vida na Terra, evocando características mutualísticas ou patogênicas em seus respectivos hospedeiros, contribuindo para a adaptação e evolução dos mesmos (FLANDROY *et al.*, 2018). Nesse contexto, os fungos são organismos eucarióticos com morfologias variadas que variam de indivíduos eucariontes a procariontes com diferentes abordagens ecológicas e de ciclo de vida (STAJICH *et al.*, 2009). A maioria das espécies de fungos são reconhecidas como agentes etiológicos de um grande número de doenças humanas, animais e vegetais. No campo de pesquisa de Produtos Naturais, eles são considerados uma importante e promissora fonte de metabólitos bioativos para descoberta de medicamentos (GUPTA *et al.*, 2020; VASUNDHARA; SUDHAKARA REDDY; KUMAR, 2019; XU *et al.*, 2019). O reino dos fungos é dividido em terrestres e marinhos, que podem ser classificados em quatro divisões principais: *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota*. Dentre eles, os coprófilos são terrestres, enquanto os micoparasitas, epífitos e endofíticos podem ser terrestres ou marinhos. O interesse em fungos endofíticos está aumentando cada vez mais, sendo conhecidos por habitar partes internas de plantas por pelo menos parte de seu ciclo de vida sem causar danos aparentes ao hospedeiro (FERREIRA *et al.*, 2021a; GUBIANI *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2018b; SAFWAN *et al.*, 2021).

Assim, fungos endofíticos são considerados nichos ecológicos importantes com grande potencial para obtenção de estruturas químicas diversificadas em produtos naturais (ABDEL-AZEEM; ABDEL-AZEEM; KHALIL, 2019; LI *et al.*, 2018b; MARINHO *et al.*, 2005; SEGARAN; SATHIAVELU, 2019). Existe uma estimativa que conta com a existência de milhões de espécies de fungos desconhecidas, cujo número elevado corresponde a endófitos e que apenas aproximadamente 5% foram descritos na literatura (PATIL; PATIL; MAHESHWARI, 2016; SEGARAN; SATHIAVELU, 2019). A maioria das espécies de fungos endofíticos pode potencializar a diversidade química natural biossintética no respectivo metabolismo do hospedeiro, estabelecendo uma relação mutualística que pode conferir vantagens ao animal ou planta hospedeiro. Essas interações mutualísticas podem garantir proteção extra contra patógenos e predadores externos, por exemplo, reduzindo o ataque de insetos, nematóides

infectantes e aumentando a tolerância a estresses bióticos e abióticos (HU *et al.*, 2013; RODRIGUES; DIAS-FILHO, 1996).

Como os fungos endofíticos estão continuamente sujeitos a interações com outros organismos, essas interações favorecem o aparecimento de grande diversidade metabólica, levando à possibilidade de um maior número de substâncias com potentes atividades biológicas (RAI *et al.*, 2014; VASUNDHARA; SUDHAKARA REDDY; KUMAR, 2019). Em contrapartida, são poucos os casos em que fungos endofíticos possam atuar como agentes infecciosos oportunistas no hospedeiro e, assim, potencializar doenças. No entanto, também altera o metabolismo do hospedeiro na produção de metabólitos bioativos, o que também pode ser relevante para triagens farmacológicas (ABDEL-AZEEM; ABDEL-AZEEM; KHALIL, 2019; GUPTA *et al.*, 2020; VASUNDHARA; SUDHAKARA REDDY; KUMAR, 2019)

a) Descrição do gênero *Aspergillus sp.*

Dentre os gêneros de fungos endofíticos o mais difundidos, é o gênero *Aspergillus sp.* apresentando um maior número de substâncias bioativas isoladas (FERREIRA *et al.*, 2021a). O gênero *Aspergillus sp.* é pertencente a classe *Ascomycota*, e algumas espécies são bem conhecidas por causar infecções de origem fúngicas. Um exemplo, *A. fumigatus*, responsável por uma infecção inflamatória pulmonar conhecida como aspergilose (LATGÉ, 1999; LI *et al.*, 2018a; LIAO *et al.*, 2018). No entanto, outros são valorizados devido à sua importância medicinal e de fermentação microbiana. Recentemente, devido à relevância médica e industrial, o sequenciamento de genomas de *Aspergillus sp.* estão sendo realizados para um melhor entendimento do metabolismo desses microrganismos (GUPTA *et al.*, 2020; WORTMAN *et al.*, 2009). Curiosamente, um grande número de metabólitos isolados de *Aspergillus sp.*, endofíticos ou patogênicos, demonstraram relevantes atividades biológicas adequadas para a descoberta de drogas em biotecnologia farmacêutica (HUANG *et al.*, 2021), como antibacteriano proeminente (LIANG *et al.*, 2015), citotóxico (NORILER *et al.*, 2018), anti-inflamatório (LIAO *et al.*, 2018) e antioxidante (MA *et al.*, 2021). Nos últimos vinte anos, metabólitos isolados de diferentes cepas de fungos endofíticos do gênero *Aspergillus* têm se mostrado promissores em termos de atividade anti-inflamatória por diferentes mecanismos de ações e alvos (TOGHUEO, 2019; XU *et al.*, 2019).

b) Descrição do gênero *Nigrospora sp.*

O segundo gênero de fungo endofítico mais relatado nos estudos com substâncias bioativas já isoladas e testadas é o gênero *Nigrospora sp.* Este gênero de fungos são classificados como ascomicetos pertencentes à família *Apiosporaceae*, da ordem *Xylariales* e classe *Sordariomycetes*, comumente registrados como fitopatógenos, endófitos e saprófitos, sendo principalmente derivados de vários hospedeiros distribuídos em ambientes terrestres e marinhos (XU *et al.*, 2022). Efeitos, como citotóxico, antifúngico, antibacteriano, antiviral, antioxidante, anti-inflamatório, antimalárico, fitotóxico, inibidor de enzimas, etc. foram relatadas em diferentes espécies do gênero *Nigrospora*. Em uma recente revisão um total de 231 metabólitos secundários isolados do gênero foram classificados como policetídeos, terpenóides, esteróides, compostos nitrogenados e ácidos graxos sendo a bioatividade de todos os metabólitos isolados do gênero descritas (XU *et al.*, 2022). Em relação à atividade antiparasitária de compostos isolados de *Nigrospora sp.*, no estudo apresentado por Metwaly e colaboradores, esteróis como ergosta-7,22-diene-3 β -ol, ergosta-4,6,8(14),22-tetraene-3 β -ol e ergosta-5(6),7,22-triene-3 β -ol apresentaram atividade antileishmania moderada com valores de IC₅₀ de 30.2, 26.4 e 36.4 μ g/mL, respectivamente, (METWALY *et al.*, 2014). Já em Varjão *et al.* 2022, antraquinonas Aphidicolin, 3-deoxy-aphidicolin e 3-oxime-aphidicolin, apresentaram IC₅₀ de 0.37, 2.28 e 0.85M respectivamente, para atividade antileishmania em formas promastigotas de cepas de *Leishmania brazillensis* (DOS SANTOS VARJÃO *et al.*, 2022). Levando em consideração que a maioria das moléculas isoladas do gênero *Nigrospora* não foram testadas para nenhuma atividade biológica (XU *et al.*, 2022), testes antiparasitários devem ser realizados com estes compostos para o auxílio na busca de novos medicamentos mais eficientes.

Neste contexto diversos gêneros de fungos endofíticos ainda não foram estudados e seus metabolitos ainda permanecem desconhecidos. Dentro das espécies de fungos endofíticos não identificados, as espécies presentes em *Poincianella pluviosa* (Sibipiruna) podem apresentar uma grande variedade de microrganismos com potencial biológico (MANDAL *et al.*, 2011). Para a realização da bioprospecção de microrganismos, plantas e invertebrados marinhos, com maior rapidez e eficiência, técnicas quimiométricas e de desrepliação podem ser aplicadas para criação de

modelos preditivos e identificação de metabólitos secundários já conhecidos e descritos na literatura, que podem estar presentes em extratos brutos e posteriores frações (BALDIM *et al.*, 2017; CHAGAS-PAULA *et al.*, 2014, 2015a).

1.3 ESTUDOS QUIMIOMÉTRICOS

O uso de métodos computacionais baseados em teorias químicas tem sido amplamente difundida na academia e na indústria, devido à sua capacidade de reduzir consideravelmente o tempo e custos envolvidos na descoberta de novos medicamentos (BALDIM *et al.*, 2017; SCOTTI *et al.*, 2018). Estes métodos fornecem informações úteis sobre as naturezas estéricas, e as interações lipofílicas entre o fármaco e os alvos biológicos, estabelecendo relações quantitativas entre suas estruturas químicas e as bioatividades para uma série de compostos em estudo, permitindo também descrever e explicar resultados experimentais, mesmo antes da realização de experimentos em bancada (SCOTTI *et al.*, 2018). Com o desenvolvimento da computação em nuvem, big data e algoritmos computacionais, o potencial de aplicabilidade da inteligência artificial em vários campos, como química e saúde, foram aprimoradas destacando-se a importância e a necessidade de big data em diagnósticos de patologias (YU *et al.*, 2022). A inteligência artificial (IA) é a capacidade das máquinas para imitar o comportamento humano, que é extremamente hábil em lidar com grandes quantidades de dados (XIE *et al.*, 2021).

A inteligência artificial (IA) e outras abordagens baseadas em dados estão reformulando os processos de descoberta e design de medicamentos, principalmente em tarefas com grandes quantidades de dados de treinamento, utilizando o aprendizado supervisionado para mapear efetivamente a relação entre entradas e saídas de dados químicos e biológicos (YU; WANG; ZHENG, 2022). O aprendizado de máquina é a aplicação da IA, que permite que sistemas computacionais possam ser treinados automaticamente a partir da experiência sem programação explícita, sendo fundamentalmente utilizado para analisar dados com algoritmos que em seguida, fazem uma previsão ou decisão sobre a situação futura de qualquer conjunto novo de dados (ALI; TALHA; BERKOUK, 2020; XIE *et al.*, 2021). Os modelos de aprendizado de máquina podem ser vistos como uma abordagem de projetar o modelo, aprendendo com a experiência e melhorando seu desempenho, visando conhecer as variáveis efetivas e a relação entre elas. (XIE *et al.*, 2021; YU *et al.*, 2022).

Na quimiinformática a previsão da estrutura tridimensional de uma molécula é definida pela eletrostática intermolecular e outras propriedades orientadas pelas conformações e distâncias interatômicas, sendo estas estruturas essenciais para tarefas de modelagem molecular (WANG *et al.*, 2019). Além disso, muitas simulações de química computacional, incluindo dinâmica molecular e a química quântica requerem estruturas tridimensionais completas para funcionar. (YOSHIKAWA; HUTCHISON, 2019). A primeira referência ao termo “quimiometria” apareceu nos anos 70 sendo definida como uma disciplina química que usa matemática, estatística e outros métodos que empregam lógica formal para design ou seleção de experimentos de medição promissores, para fornecer “o máximo de informações químicas analisando dados químicos” (ALEIXANDRE-TUDO *et al.*, 2022). Estudos químicos por meio de métodos computacionais, como modelos *in-silico*, podem ser aplicados para prever atividades biológicas com base em dados como propriedades físico-químicas, descritores moleculares, razão de massa, tempo de retenção, entre outros (BALDIM *et al.*, 2017; KATCHBORIAN-NETO *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Métodos de química computacional, como modelos quimiométricos de relação estrutura-atividade quantitativa (QSAR) visam correlacionar por um ou mais descritores numéricos, as propriedades físico-químicas de compostos químicos e sua resposta biológica de interesse, combinados com a aplicação de abordagens de otimização linear e não linear e métodos de aprendizado de máquina (KOBAYASHI; YOSHIDA, 2021; LONG *et al.*, 2013) A modelagem QSAR é amplamente utilizada para orientar o projeto e a modificação estrutural de compostos fornecendo novos derivados com bioatividade melhorada, bem como propriedades farmacocinética desejáveis (PINGAEW *et al.*, 2022) Já se passaram quase 40 anos desde que a modelagem QSAR foi usada pela primeira vez na prática de agroquímica, design de drogas, toxicologia, química industrial e ambiental, sendo sua utilização cada vez mais frequente por conta do amplo desenvolvimento de metodologias e técnicas computacionais que permitiram delinear e refinar as muitas variáveis usadas em abordagens de modelagem (KOBAYASHI; YOSHIDA, 2021; LIU; PAPA; GRAMATICA, 2006; TODESCHINI; GRAMATICA, 1998).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi a caracterização química e a avaliação biológica dos extratos e compostos isolados produzidos por fungos endofíticos de *Poincianella pluviosa* (Sibipiruna). E o desenvolvimento de um modelo QSAR para a predição de atividade anti-inflamatória.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- a) Coleta e isolamento de fungos endofíticos das folhas de *Poincianella pluviosa*; Desenvolvimento de revisões clássicas e sistemáticas sobre compostos bioativos isolados dos principais gêneros de fungos endofíticos reportados na literatura;
- b) Replicação dos fungos isolados para obtenção dos extratos brutos;
- c) Quantificação da inibição de PGE₂ para perfil anti-inflamatório dos extratos;
- d) Desreplicação por espectrometria de massas de alta resolução utilizando banco de dados Internos;
- e) Isolamento das substâncias produzidas pelos fungos selecionados;
- f) Criação de um modelo de predição anti-inflamatório QSAR.

3 METODOLOGIA

3.1 REVISÃO SISTEMÁTICA E CLÁSSICA

Inicialmente foi desenvolvida uma revisão sistemática sobre o gênero de fungo endofítico *Aspergillus sp.*, para a determinação das moléculas isoladas com atividade anti-inflamatória. O gênero *Aspergillus* foi escolhido inicialmente, pois o mesmo apresentou maior número de substâncias ativas anti-inflamatórias descritas na literatura vigente. O presente estudo realizou uma revisão sistemática, compilando as principais classes de produtos naturais responsáveis por atividades anti-inflamatórias que podem contribuir para a compreensão do potencial uso de metabólitos de fungos endofíticos do gênero *Aspergillus sp.* para candidatos terapêuticos anti-inflamatórios inovadores. Os procedimentos de isolamento, caracterização e bioensaios, bem como a potência dos efeitos anti-inflamatórios, a diversidade química e as vias anti-inflamatórias envolvidas foram analisados e discutidos de forma sistemática, através de análises estatísticas e gráficos correspondentes. Durante o desenvolvimento do trabalho uma revisão clássica do gênero *Nigrospora sp.*, o segundo gênero mais estudado de fungos endofíticos descrito na literatura, foi realizada, abordando os principais compostos bioativos descritos na literatura.

3.1.1 Estratégias de busca e critérios padrões

A elaboração da revisão sistemática foi realizada seguindo as declarações das diretrizes PRISMA através dos critérios cochrane para revisão sistemática e metanálise (MOHER *et al.*, 2015) . A presente revisão teve como objetivo responder à seguinte questão norteadora: “Quais são os metabólitos secundários do gênero *Aspergillus* com atividade anti-inflamatória?”. A busca do estudo foi dividida em uma estratégia de dois níveis. Primeiramente, a pesquisa avançada foi realizada diretamente nas seguintes bases de dados online: SciFindern, Web of Science e PubMed. Em segundo lugar, uma investigação indireta adicional foi conduzida para reunir registros mais relevantes, explorando a lista de referências dos artigos incluídos, revisões anteriores e Google acadêmico. Para a busca avançada, a combinação de palavras-chave foi a mais ampla possível para atingir o número máximo de estudos relatando metabólitos secundários de espécies de fungos endofíticos do gênero *Aspergillus* apresentando propriedades anti-inflamatórias. A pesquisa foi realizada com base em dois componentes (i) “atividade

anti-inflamatória” e (ii) “*Aspergillus*” de acordo com seus respectivos termos MESH na biblioteca PUBMED. Um filtro adicional foi incluído para eliminar as revisões. A estratégia de busca completa está descrita no material complementar (**Anexo I**).

3.1.2 Critérios de elegibilidade

Todos os artigos coletados das bases de dados foram extraídos para o software Endnote como arquivos de citação bibliográfica. O programa foi utilizado para gerenciar citações e identificar duplicatas. Dois revisores independentes (AKN e KJN) examinaram os títulos e resumos de todos os artigos. Os estudos potencialmente relevantes foram avaliados no formulário de texto completo para verificar a elegibilidade. Qualquer discordância em relação à seleção da bibliografia e critérios de elegibilidade foi endereçada a um terceiro revisor (MSF). Os artigos foram selecionados para a análise qualitativa se pelo menos um metabólito de *Aspergillus* com atividade anti-inflamatória pudesse ser identificado por métodos espectroscópicos ou espectrométricos de alta precisão (Ressonância Magnética Nuclear RMN ou Espectrometria de Massa - MS). Os critérios de exclusão incluíram: 1) dados incompletos de identificação química, 2) testar substâncias semissintéticas ou não previamente isoladas do gênero *Aspergillus*, 3) texto completo ou patentes indisponíveis, 4) falta de estudos pré-clínicos *in vivo*, 5) artigos publicados que não são indexados ou submetidos à revisão por pares, 6) publicação não inglesa. Nenhuma restrição de data e local foi aplicada. A concordância interobservadores alcançada em nossa estratégia de busca foi avaliada estatisticamente usando o coeficiente kappa de Cohen's (**k**), sendo o mesmo, usado para medir a confiabilidade interexaminador (e também a confiabilidade intraexaminador) para itens qualitativos categóricos.

3.1.3 Extração de dados

Os dados coletados dos estudos foram reunidos de forma ordenada em uma planilha Excel (Excel, Microsoft, Washington, EUA), e a tabela final foi verificada por um quarto revisor (JCC). Os artigos foram descritos qualitativa e quantitativamente da seguinte forma: (i) Características da publicação: autores, data de publicação e país; (ii) Características do metabólito: massa molecular, massa monoisotópica, nome comum ou químico, classe NP; (iii) Fungos e características do hospedeiro: *Aspergillus sp.*/ estirpe, parte vegetal ou localização geográfica da coleção e meio de cultivo do fungo; (iv) Alvo

principal: mediadores anti-inflamatórios, enzimas ou tipo de cultura celular de bioensaios (v); IC₅₀, a concentração de inibição ou porcentagem de inibição. Os resultados mais importantes e a descrição detalhada são demonstrados na tabela complementar (**Anexo IV**).

3.1.4 Diagrama, mapa e gráficos

O diagrama de Venn foi definido usando a ferramenta online Venny 2.1 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) para grupos de arranjo de acordo com os diferentes mecanismos de ação anti-inflamatória. O mapa geográfico foi feito utilizando a ferramenta online Mapchart (<https://mapchart.net/world-advanced.html>). Os gráficos foram criados usando ferramentas gráficas do Excel.

3.1.5 Banco de dados químico *Aspergillus.sp*

O banco de dados de produtos químicos “*Anti-inflamatórios Aspergillus database* (AADB)”, foi construído para esta revisão com base em massas monoisotópicas e fórmulas moleculares obtidas da literatura e download usando os bancos de dados químicos online ChemSpider® e PubChem®. As estruturas coletadas foram manipuladas com o software ChemDraw ultra 12.0 (Perkin Elmer Informatics, Cambridge, Inglaterra) e salvas no formato .mol. Os bancos de dados digitais químicos on-line: DNP© (Dicionário de Produtos Naturais) e KNApSAcK (A Comprehensive Species Metabolites Relationship Database) também foram usados para consulta de dados químicos (**Anexo IV**).

3.2 REVISÃO CLÁSSICA *Nigrospora*

3.2.1 Banco de dados químico *Nigrospora.sp*

O banco de dados químicos da revisão, foi montado com 271 metabólitos obtidos da literatura pertencentes a 21 diferentes espécies/culturas de fungos endofíticos do gênero *Nigrospora.sp* (**Anexo XIII**). A pesquisa foi feita em língua inglesa, nas bases de dados bibliográficas abordadas como as plataformas Web of Science e Google Scholar. Além disso, as palavras-chave “Gênero *Nigrospora*”, “fungos endofíticos AND

Nigrospora”, “fitoquímica de *Nigrospora*”, “metabólitos secundários de *Nigrospora*” e “bioatividades AND *Nigrospora*”, foram utilizadas para encontrar artigos publicados (1991 e 2022), incluindo também a literatura 'cinzenta'. O presente banco de dados químico compreendeu os seguintes itens: nome do metabólito, fórmula molecular, massa monoisotópica, classe de produto natural, bioatividade, valores de IC₅₀/MIC (quando aplicado), diferentes espécies do gênero *Nigrospora*, parte da planta hospedeira e fonte da literatura. As estruturas foram desenhadas usando o software ChemDraw ultra 12.0 (Perkin Elmer Informatics, Cambridge, Inglaterra).

3.3 FITOQUÍMICA

3.3.2 Reagentes e Solventes

Dexametasona (Eurofarma), Indometacina (Farmácia UNIFAL), Cloranfenicol (Farmácia UNIFAL), Gentamicina (Sigma Aldrich), PGE₂ Padrão (Sigma Aldrich), LPS-Lipopolissacarídeo (Sigma Aldrich), PBS (Sigma Aldrich), Nitrogênio Líquido (Linde), hexano PA (Synth e Tedia), Metanol (Synth e Tedia), Etanol PA (Synth e Tedia), Acetato de Etila PA (Synth e Tedia), Ácido acético PA (Synth e Tedia), Água (milli-Q), Água Deuterada (D₂O) (Sigma Aldrich), Metanol deuterado (CD₃OD). Metanol (Synth e Tedia); Acetonitrila (Synth e Tedia); Ácido acético (J.T Backer) e Ácido fórmico (ChemcoBrazil) com alto grau de pureza .

3.3.3 Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados foram: a) PDA- Batata Dextrose Ágar da (Sigma-Aldrich), preparado na concentração de 39g/L de água destilada e esterilizada (15 min à 121°C) e b) PD- Batata Dextrose (Sigma-Aldrich), preparado na concentração de 24g/L de água destilada e esterilização (15 min à 121°C).

3.3.4 Material vegetal

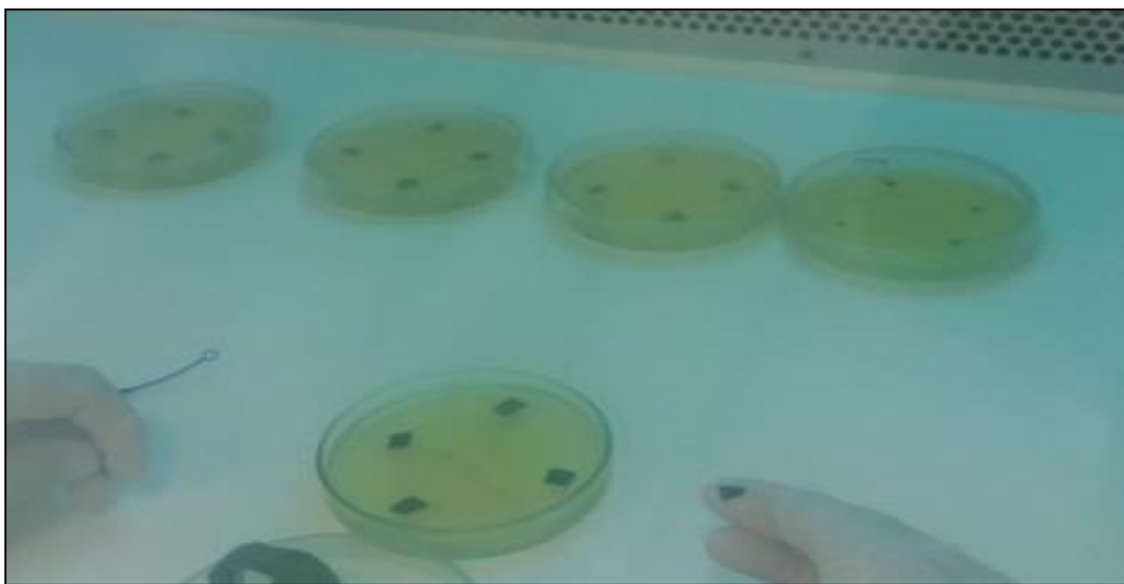
As folhas e galhos da espécie *P. pluviosa* foram coletadas no campus da Universidade federal de Alfenas (UNIFAL) no município de Alfenas- MG, Latitude (21°42'09.6``S) e longitude (45°94'86.07``) a coleta foi realizada no dia 19/03/2018 no

período das 6:15h da manhã. As amostras foram assepticamente armazenadas em sacos plásticos estéreis e transportadas para o laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal no departamento de química da UNIFAL. A exsicata da espécie vegetal encontra-se depositada no herbário da UNIFAL voucher (UALF-1634).

3.3.5 Isolamento e preservação dos fungos endofíticos

As folhas foram lavadas duas vezes com EtOH 70%, H₂O destilada estéril (15 min à 121°C) e imersas em solução de hipoclorito de Sódio (NaClO) a 2% por 5 minutos. Em seguida, transferidas para capela de fluxo laminar onde cortes quadrangulares em diferentes partes de cada folha foram realizados, utilizando um bisturi estéril. As partes cortadas foram transferidas para placas de Petri preenchidas com meio de cultura batata dextrose ágar (PDA) e antibiótico (Sulfato de Gentamicina) para evitar o crescimento bacteriano (**Figura.1**) por um período de sete dias.

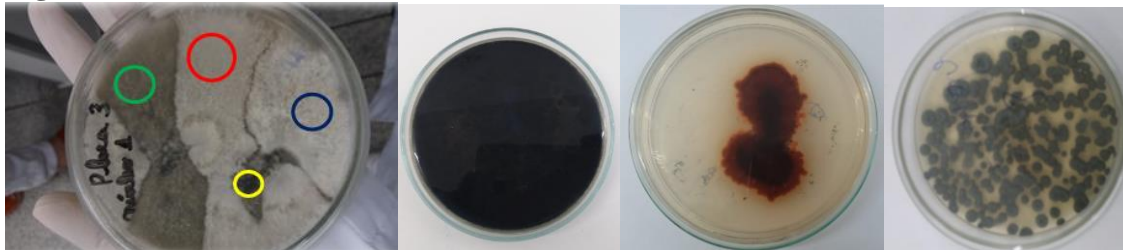
Figura 1- Inoculação de cortes em formato quadrangular de diferentes partes de Folhas de *P.pluviosa* em meio PDA.



FONTE : Do autor.

Em seguida, as colônias selecionadas foram repicadas sucessivamente até a obtenção das linhagens puras. A pureza dos isolados foi determinada pela aparência uniforme da colônia na placa replicada em meio PDA (**Figura 2**).

Figura 2- Colônias de Fungos endofíticos isolados de *P.pluviosa* em meio PDA.



FONTE: Do autor

Depois de considerados puros, as cepas isoladas, foram armazenadas em frascos de criopreservação e conservados em triplicatas em diferentes meios (Castellani e glicerina) e transferidos para criotubos previamente esterelizados de 2mL, os quais foram lacrados, identificados e armazenados em congelador a -5°C .

3.3.6 Classificação e anotação dos fungos

As linhagens consideradas puras após replicação foram anotadas pelo Laboratório de Ecologia e Sistemática de Fungos (LESF), da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Rio Claro. Para anotação das cepas isoladas, foram observadas as características morfológicas, o sequenciamento da região ITS (“Internal Transcribed Spacer”) e análise filogenética (utilizando sequências de referência do GenBank).

3.3.7 Obtenção dos extratos brutos

Os fungos isolados foram primeiramente replicados em placas de petri contendo PDA e incubados a 25°C por sete dias. Em seguida, os fungos incubados foram transferidos e cultivadas em erlenmeyers de 500mL previamente limpos, autoclavados com 250 mL de meio líquido PD. Após o período de fermentação de 21 dias a 25°C , as culturas de fungos (Micélios e caldo PD) foram homogeneizados em desintegrador e emulsificador tipo TURRAX TE102. Após homogeneização as misturas foram filtradas e submetidas à extração exaustiva, com solvente acetato de etila (AcOEt) e seco em evaporador rotativo na temperatura de 54°C , resultando na elaboração dos Extratos Brutos (EB).

3.3.8 Seleção dos fungos endofíticos para estudo químico

Para seleção dos extratos de endofíticos para estudos químicos, os extratos seguiram três principais critérios: 1) Avaliação dos perfis cromatográficos HPLC–UV-DAD dos extratos brutos na busca de cromatogramas com substâncias majoritárias. 2) Maior rendimento em gramas em 250mL de PDA. 3) Presença de atividade anti-inflamatória por quantificação da inibição de PGE₂ em experimento *ex-vivo* analisado estatisticamente por matriz combinatória .

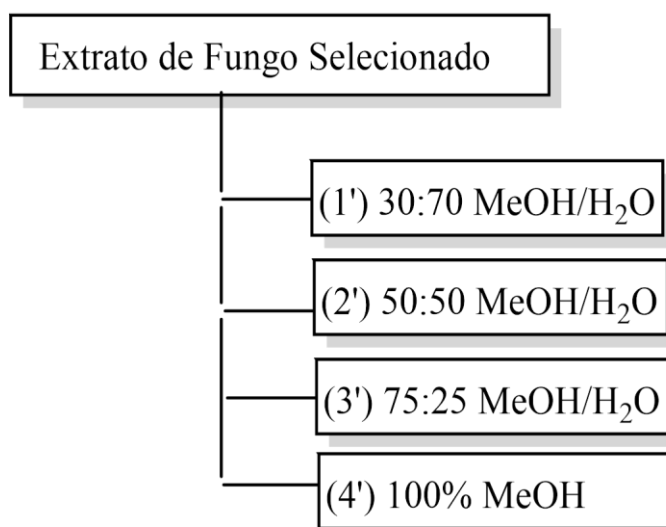
3.3.9 Fracionamento dos extratos brutos (EB)

O extratos dos fungos selecionados foram fracionados utilizando “Extração em Fase Sólida (EFS)”, utilizando fase móvel Metanol (Synth e Tedia) e água ultra pura (mili-Q) em Manifold (Supelco) acoplados a cartuchos (LC-18 EFS 500mg, #57012) e bomba a vácuo (**Figura. 3**). De 20 a 150mg de amostras foram inseridas nos cartuchos já pré-condicionados com 2 mL de MeOH, seguido por 2 mL de água ultrapura (mili-Q) acidificada (0,1%) com ácido acético. Para a extração utilizou método gradiente MeOH/H₂O com eluição nas proporções de (30:70); (50:50); (75:25) e (100% MeOH) com um volume total de 100mL de fase móvel para cada proporção de solventes aplicado, aonde ao final foram coletadas duas frações de 50mL para cada proporção (**Figura 4**). Todos os extratos secos foram pesados e seus rendimentos calculados.

Figura 3- Manifold LC-18 -SPE (Extração Fase Sólida)



FONTE: Do Autor.

Figura 4- Fracionamento de Extratos de fungos

FONTE: Do Autor.

3.3.10 Técnicas cromatográficas

3.3.10.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

As análises foram feitas em placas de sílica gel 60 com indicador de fluorescência UV₂₅₄ da Merck. As revelações foram efetuadas com irradiações UV de 254nm e 360nm, e exposição a iodo sublimado.

3.3.10.2 Cromatografia líquida de alta performance (HPLC)

Separações por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) em escala analítica e semi-preparativa foram realizadas em equipamento analítico HPLC-UV (Shimadzu[®]) com Detector Arranjo de Diodos (DAD), UV- DAD SPD-M20A, injetor SIL-20AHT, forno para coluna CTO-20^a, com duas bombas LC-20AD, degaseificador DGU-20A3 e coletor FRC-10A da Unifal-MG. As análises cromatográficas em HPLC-DAD, utilizaram uma coluna de fase reversa C18 Shim-pack CLT-ODS (M) de 4,6 mm de diâmetro interno, 250 mm de comprimento e partículas de 5 µm. O método cromatográfico desenvolvido foi gradiente exploratório (gradiente de 5 a 100% de B em A, durante 30 min em um fluxo de 1 mL/min, com fase móvel de água milli-Q acidificada com 0,1% de ácido acético (A) e ACN (B) para avaliação prévia dos extratos.

3.3.11 Técnicas espectroscópicas e espectrométricas

3.3.11.1 Ressonância magnética nuclear (RMN de ^1H e ^{13}C)

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em espectrômetro Bruker 7.05 Tesla, modelo AC-300 (Laboratório de RMN da Unifal-MG). As amostras foram analisadas em tubos de 5 mm, diluídas em Metanol deuterado (CD_3OD) e Água deuterada (D_2O) da (Sigma-Aldrich). Experimentos bidimensionais como HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation), HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) e COSY (Correlation Spectroscopy), também foram realizados.

3.3.11.2 Espectrometria de massas (MS)

Para análises de caracterização química foram utilizadas espectrômetro Waters XEVO G2-XS Q-TOF (Cromatografia Líquida de Ultra Performance com analisador por Tempo de Voo). Todos os extratos foram anteriormente particionados com solvente hexano grau HPLC para remover o material graxo (ceras, pigmentos lipofílicos, etc.), logo após os extratos foram filtrados com filtro de PTFE e submetidos para análises em injetados na concentração de 1 mg/mL. A coluna utilizada para a separação foi C18 ultra-analítica com fase reversa ACQUITY UPLC[®]HSS T3 (1,8 μm , 100 x 2,1 mm). O forno de coluna foi mantido a 40 °C. As fases móveis usadas foram solvente A, água MiliQ acidificada (ácido fórmico a 1% v / v) e solvente B, ACN. O volume de injeção foi de 5 μL . O método de eluição foi gradiente de 10 min com 0,5 mL / min de taxa de fluxo. O método usado foi de 1% ACN-99% H_2O , em 0,1 min 85% H_2O -15% ACN, em 7,5 min 20% H_2O -80% ACN, em 8,5 min 1% H_2O e 99% ACN, em 8,6 min 99% H_2O 1% ACN e até 10 min com 99% H_2O 1% ACN.

Além disso, os espectros de massas foram obtidos utilizando o software Masslynx (Waters Xevo-SQTOF/MS (Waters Corporation) e ionização por eletrospray (ESI) operados no modo de ionização positivo e negativo. Os parâmetros dos espectrômetros de massa foram executados com varreduras alternativas de alta e baixa energia, que são reconhecidas como modo de aquisição do MSE. Os parâmetros operacionais do equipamento foram os seguintes: tensão do cone, 40V; tensão capilar, 3,0 kV; fluxo de gás do cone, 30 L / h; temperatura de dessolvatação, 300 °C;

temperatura da fonte, 120 °C; e fluxo de gás de dessolvatação, 600 L/h. O intervalo de varredura em massa foi definido como 100 a 1000 m/z . Os dados de EM foram coletados em modo centroide, utilizando o spray lock para calibração do equipamento MS para garantir a precisão e reprodutibilidade das análises. Uma concentração de 200 pg/mL de leucina encefalina foi usado como Lock Mass, identificada por m/z 554,2622 (ESI⁻) e m/z 556,2768 (ESI⁺). A frequência de pulverização de bloqueio foi estabelecida em 10 s.

3.3.16 Desrepliação dos extratos

A desrepliação foi auxiliada pelo banco de dados interno, construído com base em periódicos experimentais e revisões na literatura, bem como as plataformas online Dicionário de Produtos Naturais© (DNP), SciFinder®, Web of Science e PubMed.(Anexo XIII). Os dados de espectrometria de massas foram processados separadamente para dados dos modos positivo e negativo, e os parâmetros do método foram estabelecidos de acordo com os aspectos gerais do cromatograma de cada modo: o limite de intensidade do marcador foi definido como = 10.000, a tolerância de massa (janela XIC) foi = 0,03 Da , a janela de massa foi = 0,05 e a tolerância da janela de tempo de retenção (RT) foi = 0,01. Os dados brutos de MS foram analisados usando o software MZmine 2.53 para obter uma lista de picos de metabólitos secundários para comparação e desrepliação de marcadores. As etapas de deconvolução incluídas (limiar: 5%; RT: Intervalo 0,01 min; altura relativa mínima: 15%), deisotoping (tolerância m/z : 0,003; tolerância RT: 0,1 min), alinhamento (tolerância m/z do alinhador de junção: 10 ppm; tolerância RT: 0,1 min; peso para m/z : 15 e para RT: 0,1 min), preenchimento de lacunas (intensidade, m/z e tolerância RT respectivamente: 10%; 10 ppm e 0,1 min) e anotação (m/z e tolerância RT: 10 ppm e 10 min). O software também foi aplicado para fins gráficos de espectrogramas MS/MS.

3.3.17 Outros materiais

- Balança Analítica –Schimadzu AW220
- Autoclave vertical – Primatec CS
- Capela de Fluxo Laminar –Fulterflux FLV. 1266/4
- Speed Vacuum equipment –Thermofisher mod/SPD1030

3.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS

3.4.1 Atividade anti-inflamatória *ex vivo*

O procedimento experimental incluiu avaliações randomizadas avaliadas em triplicatas. O sangue venoso periférico agrupado foi obtido de voluntários saudáveis do sexo masculino e feminino com idades entre 20 e 35 anos. O sangue foi coletado de doadores que relataram não ter usado anti-inflamatórios ou CAP (padrão interno, IS) pelo menos 15 dias antes da coleta de sangue. Os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para participação na pesquisa autorizada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alfenas N^o89325818. 1.0000.5142. O ensaio anti-inflamatório foi realizado seguindo o protocolo desenvolvido por (ROSA *et al.*, 2021a). O sangue humano heparinizado (200 µL) foi utilizado para a avaliação quantitativa de mediadores químicos no plasma. As amostras de extratos secos foram suspensas em uma proporção de 8:2 (Água Ultrapura: Etanol grau HPLC), para atingir a concentração inicial de 1mg /mL. O preparo de amostra foi realizado através de com 2x limpeza com hexano grau HPLC e filtração através de microfiltros PTFE 0.22µm. As substâncias puras foram testadas na concentração de 1 µg/mL, enquanto os extratos, na concentração de 10µg/mL. O lipopolissacarídeo (LPS, E. coli O26:B6, 10 µg/mL) foi utilizado como agente indutor da inflamação sanguínea. As amostras foram diluídas com solução salina tamponada com fosfato (PBS - pH 7,2; cloreto 0,15 M; fosfato 0,01 M) em placas de 96 poços (25 µL da amostra, 200 µL de sangue em todos os poços e 25 µL de solução LPS, com um volume total de 250 µL em cada poço, sangue + amostras + LPS). As amostras foram controle negativo (PBS), controles positivos (medicamentos de referência: dexametasona/indometacina - 1 µg/mL) e extratos de fungos (10 µg/mL). A solução PBS 1x sempre foi utilizada, de acordo com as quantidades especificadas na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Protocolo de preparação PBS (pH 7.2; 0,15 M cloreto;0.01 M fosfato).

Reagente	Tipo	1x	10x
Na ₂ HPO ₄	12 H ₂ O	2,9 g	29,0g
..	7H ₂ O	2,7g	21,7
..	Anidro	1,136g	11,36g
KH ₂ PO ₄	..	0,27g	2,7g
NaCl	..	8,8g	88g
H ₂ O	..	1L	1L

FONTE: Do Autor.

As placas de 96 poços foram incubadas por 24 horas em atmosfera de 5% CO₂ a 37 °C, centrifugou-se por 5 min a 1000 rpm e 4 ° C. O plasma (100 µL) foi removido e a precipitação de proteínas foi realizada adicionando 500 µL de MeOH:ACN refrigerado (1:1, v/v) às amostras de plasma e depois centrifugado (6000 rpm, 4°C) por 10 min . Os sobrenadantes foram coletados, diluídos em H₂O destilada (4,5 mL), carregados em Supelco (LC-18 SPE 100 mg), eluídos em tubos eppendorf pré-marcados (1 mL de solução de ácido acético metanólico a 0,1%) e completamente secos e armazenado a -20 °C para análise de quantificação de PGE₂. Os materiais usados para pipetagem e plaqueamento das amostras de sangue foram anteriormente autoclavados (pontas, eppendorfs, tubos falcon, bem como PBS 1x para diluição das amostras). Todo o material usado para o teste foi inserido na capela de fluxo laminar previamente para esterilização por UV com período de exposição de 30min.

3.4.1.1 Quantificação de prostaglandina E₂ (PGE₂)

As amostras obtidas no ensaio anti-inflamatório *ex-vivo* foram reconstituídas com 100 µL de ACN (grau HPLC) para análise UPLC-MS/MS. O CAP foi utilizado como padrão interno (PI) na concentração de 25 ng/mL. As amostras foram submetidas ao cromatógrafo líquido Shimadzu®, Kyoto, Japão Prominence com duas bombas LC-20 AD, um desgaseificador DGU-20A3, modos de operação de eletrospray (ESI) positivo e negativo, amostrador automático SIL-20A HT, forno CTO-20A e controlador CBM-20A acoplado a um espectrômetro de massa Shimadzu LC-8030 (analisador de quadrupolo triplo). A separação cromatográfica foi conduzida a 30°C em uma coluna de

fase reversa Poroshell 120 EC-C18 (Agilent, Santa Clara, CA, EUA, 2,7 μm , 3 x 100 mm) acoplada a uma pré-coluna de fase reversa Eclipse (Agilent, Santa Clara, CA, EUA, 1,8 μm , 2,1 x 5 mm) com um volume de injeção de 20 μL . A fase móvel incluiu: H₂O acidificada a 0,1% com ácido fórmico (A) e ACN (B). O método cromatográfico gradiente de corrida total de 8,5 min e fluxo de 0,3 mL/min variou de 40% a 100% de B em 3 min, mantido por 1 min a 100%, e depois retornou com 40% de B em 0,50 min.

Depois, para o acondicionamento da coluna, foi mantida por 4 min com 40% de B. As configurações do espectrômetro de massa foram nitrogênio do gás de nebulização com fluxo de 2 L/min, nitrogênio do gás de secagem com fluxo de 15 L/min a 450 °C, tensão de interface 3,5 kV, temperatura DL 250 °C, voltagem do detector 2,44 kV e gás de colisão argônio a 230 kPa. As transições das relações massa-carga (m/z) foram monitoradas pelo monitoramento da reação selecionada (SRM) no modo negativo $[M-H]^-$ de acordo com o método validado descrito anteriormente por (ROSA *et al.*, 2021b) e baseado na resolução ANVISA RDC N° 27, 17/05/2012. A aquisição e o tratamento dos dados foram realizados no software LabSolutions®. Os resultados do ensaio anti-inflamatório *ex-vivo* foram analisados estatisticamente por meio de análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo teste de comparação múltipla de Dunnett e são expressos como média \pm desvio padrão (SD) no GraphPad Prism® 9.1.2 (GraphPad Software©, La Jolla, CA, EUA).

3.4.2 Atividade antiparasitária

3.4.2.1 Teste de eclosão larval (TEO OU EHT)

Para este teste e os outros testes anti-helmínticos *in vitro* foram utilizadas ovinos infectados artificialmente com uma cepa de *Hamonchus contortus* (Kokstad). O uso dos ovinos para o teste anti-helmínticos *in vitro*: teste de Inibição da eclosão larval (TEO), foi aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UNIFAL) da Universidade Federal de Alfenas, com o registro n0 0053/2021, com vigência de 14/02/2022 a 25/04/2024. A técnica de eclosão larval (TEO) ou “Egg Hatching test” (EHT) está sendo desenvolvida de acordo com a metodologia descrita por COLES *et al.*, (1992). Esta técnica consiste em incubar 250 μL de solução de ovos com 250 μL das diluições do extrato em tubos de ensaio de 5 mL por 48 horas, a 25 °C. As

concentrações utilizadas para extratos (FPD13) foram: 4, 2, 1, 0.5, 0.25 mg/ml. Posteriormente se coloca lugol nos tubos com a solução de ovos e extratos para interromper a eclosão das larvas de primeiro estágio (L1). As contagens de ovos e L1 são realizadas em microscópio ótico (100x) para determinar a inibição da eclosão larval segundo características morfológicas observadas. Utilizou-se um controle negativo com DMSO ao 1%. O controle positivo foi thiabendazol na concentração 0.1 mg/mL. São realizadas três repetições dos testes com três a cinco réplicas de cada tratamento e concentração, assim como de cada um dos controles (positivo e negativo). O resultado é expresso em porcentagem de inibição (%) de eclosão larval.

3.5 QUIMIOMETRIA

3.5.1 Banco de dados estrutural *Aspergillus*

O conjunto de dados foi construído com base na revisão sistemática (FERREIRA *et al.*, 2021a) que abrangeu metabólitos ativos de *Aspergillus* sob ensaio anti-inflamatório *in vitro* empregando diferentes alvos farmacológicos. Assim, a modelagem do QSAR foi realizada exclusivamente para a via anti-inflamatória do NO devido à maior quantidade de dados relatados para a inibição da enzima iNOX e da molécula sinalizadora do NO. Aqui, a inibição de NO de 60 entidades químicas isoladas de diferentes *Aspergillus sp.* foram extraídas para construir o conjunto de dados. As informações da atividade anti-inflamatória foram extraídas dos artigos originais, cujos dados foram relatados como a concentração inibitória média (valores de IC₅₀) em ensaios *in vitro* (células RAW167 induzidas por lipopolissacarídeos bacterianos – LPS).

3.5.2 Cálculo de descritores moleculares

Os 60 metabólitos do conjunto de dados contendo diferentes classes metabólicas foram redesenhados e salvos como estruturas 2D (formato .mol) usando o software ChemDraw ultra 12.0. As geometrias tridimensionais foram calculadas por meio de mecânica molecular usando o software Avogadro versão 1.2.0 parâmetros [Extensions-Optimise Geometry-Molecular Mechanics-Setup force field (GAFF, 5000, Steepest Descent, 10e-7)]. As estruturas foram salvas e exportadas (formato .mop) Referência (.).

Em seguida, as estruturas foram otimizadas utilizando o software de extensão MOPAC 2016 (Molecular Orbital PACkage) pelo método de química quântica semiempírica PM7 e exportadas (formato .out) (BALDIM *et al.*, 2017; CHAGAS-PAULA *et al.*, 2015a; J. J. P. STEWART, 2016). Cada molécula foi verificada manualmente (formato .mol) usando Avogadro versão 1.2.0. Os descritores moleculares foram calculados utilizando o software alvaDesc versão 2.0 (BALDIM *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2015).

3.5.3 Estudos de QSAR

Os valores de IC_{50} foram obtidos em $\mu\text{g/mL}$ e então convertidos para micromolar (μM), e logarítmicos normalizados como valores de pIC_{50} ($-\log IC_{50}$). O valor mais alto de pIC_{50} indica a atividade potencial de inibição de NO mais promissora, que corresponde aos valores mais baixos de IC_{50} . Os dados do descritor foram normalizados usando o software Weka 3.9.5 com escala 1 e tradução 0 (Baldim *et al.*, 2017; I. H. Witten, E. Frank, 2011). Após a normalização, para desenvolver um modelo de previsão de atividade e um estudo de QSAR, as estruturas foram divididas em dois grupos, dois terços para o conjunto de treinamento $n = 46$ (~77%) e um terço para o conjunto de teste $n = 14$ (~33 %). Para a seleção inicial dos descritores, foram realizados testes flutuando a porcentagem de treinamento de dados de 70 a 80%. Os descritores importantes para os valores de pIC_{50} foram classificados usando o avaliador de subconjunto RandomForest (métodosWeka:AttributeSelectedClassifier-E".CorrelationAttributeEval"-S"weka.attributeSelection.Ranker-T 7976931348623157E308-N-1"-W.RandomForest- P 100 -I 100 -num-ranhuras 1 -K 0 -M 1,0 -V 0,001 -S). A seleção do ranking assumiu valores de correlação $> 0,98$ pelo teste de correlação de Pearson (0,1 a 0,49). Assim, 366 dos 5.631 descritores foram reunidos para seleção de subconjuntos. Assim, os descritores com maior correlação positiva foram agrupados e os descritores finais para o modelo foram selecionados seguindo a regra de ouro da parcimônia e da semelhança entre as características físico-químicas dos descritores.

3.5.4 Modelos de aprendizado de máquina

Os sete maiores descritores correlacionados previamente selecionados foram usados para construir a Rede Neural Artificial (RNA) de aprendizado de máquina para o modelo QSAR. Os algoritmos foram construídos no software Weka 3.9.5 usando os dados normalizados e os valores de pIC_{50} (BALDIM *et al.*, 2017; E. FRA2NK, M. A. HALL, 2016). O classificador “Multilayer perceptron” foi inicialmente aplicado e otimizado usando 4 de “Hidden layers” e 420 de “Training time” (L, 0,3; M, 0,2; N, 420; V, 0; S, 0; E, 20; e H, 4). O “Multilayer perceptron” aplica o método de retropropagação para determinar as massas, e também usa uma função sigmoide para cada nó ou neurônio, e assim o peso de cada nó pode ser calculado para cada instância de treinamento (BALDIM *et al.*, 2017; E. FRANK, M. A. HALL, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2015). Os valores de R^2 (coeficiente de correlação ao quadrado) e Q^2 (coeficiente de variação preditiva ao quadrado, “fold” de 10 vezes) foram calculados para medir a qualidade do ajuste e para realizar a validação cruzada, respectivamente. Além disso, para avaliar a robustez e garantir a validade dos modelos, os valores de P^2 (coeficiente de correlação quadrado para conjunto de teste) foram determinados pelo conjunto de teste fornecido. No presente estudo, 14 instâncias foram selecionadas para o conjunto de teste das 60 do conjunto de dados (~33%), das quais 46 (~77%) foram usadas para treinar o modelo para corroborar e confirmar a adequação do modelo construído (**Tabela S5**). O teste de “scramble” foi implementado com os valores de atividade NO pIC_{50} misturados aleatoriamente para realizar validação interna adicional.

3.5.5 Domínio de aplicabilidade

O Domínio de Aplicabilidade (DA) é simplesmente definido como “uma região físico-química teórica no espaço (o espaço de resposta e a estrutura química) para a qual um modelo QSAR deve fazer previsões com certa confiabilidade”(PUZYN; LESZCZYŃSKI; CRONIN, 2010). À medida que construímos um modelo QSAR robusto, significativo e validado, não podemos esperar que ele preveja de forma confiável a propriedade modelada para todo o amplo universo de produtos químicos. Assim, é exigida uma forte ênfase na validação rigorosa dos modelos e, dependendo da extensão do conjunto de dados, uma determinação do domínio de aplicabilidade pode

ser um pré-requisito, geralmente incluindo validações internas e ocasionalmente externas (KEMSLEY; TAPP, 2009; KOBAYASHI; YOSHIDA, 2021; LONG *et al.*, 2013). Para aplicação do domínio de aplicabilidade foi utilizado o software KNIME Analytics Platform (<https://www.knime.com/getting-started-guide>) através do nodo Domain –Similarity que é baseado nas distâncias euclidianas. Neste nó medidas de similaridade são usadas para definir o domínio de aplicabilidade do modelo baseado nas distâncias euclidianas entre todos os compostos de treinamento e os compostos de teste ou triagem virtual. A distância de um composto de teste para seu vizinho mais próximo no conjunto de treinamento é comparada com o limiar de domínio de aplicabilidade (APD) predefinido. Se a semelhança estiver além desse limite, a previsão é considerada não confiável (ZHANG *et al.*, 2006).

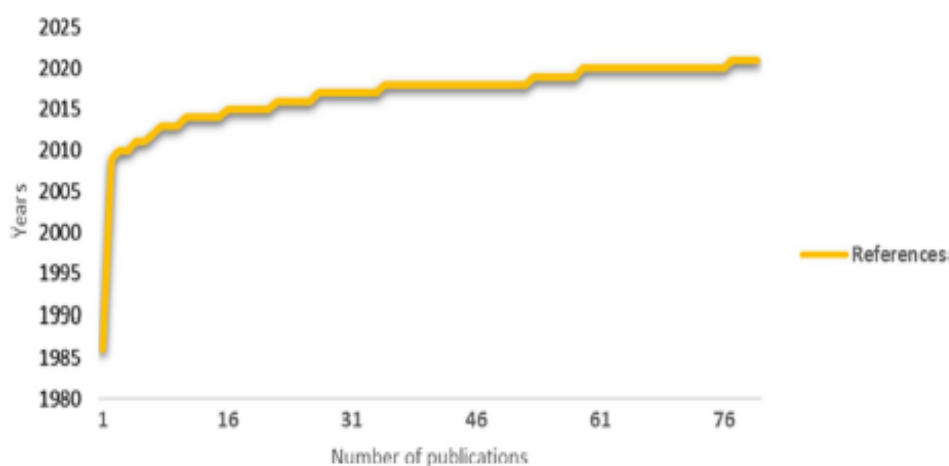
4 RESULTADOS

4.1 REVISÃO SISTEMÁTICA *ASPERGILLUS*

4.1.1 Estudos característicos de busca em bancos de dados

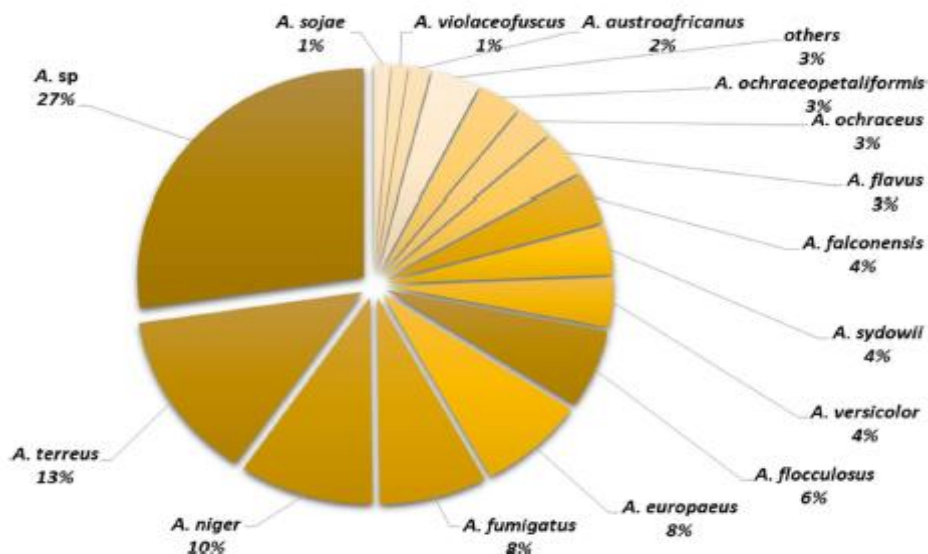
A estratégia de busca identificou 1718 registros nas bases de dados (PubMed, SciFindern e Web of Science) dos quais 687 eram duplicatas. Depois de verificar todos os critérios de elegibilidade, 77 permaneceram e foram incluídos na análise qualitativa. Esses estudos foram desde as datas de 2000-2021, exceto por um artigo de 1986. O **Anexo I** representa o fluxograma PRISMA detalhado. O teste de concordância entre observadores para esta estratégia de busca alcançou um coeficiente kappa de 0,0838, o que indica uma forte concordância entre os avaliadores (AKN e KJN). Os estudos foram conduzidos em diferentes países ($n = 12$): China (67,53%, $n = 52$), República da Coreia (12,98%, $n = 10$), Índia, Alemanha, Japão, Arábia Saudita e Taiwan (2,59%, total de 12,98%, $n = 2$ cada), Austrália, Brasil, França, Holanda, Sri Lanka (1,29%, total de 6,49%, $n = 1$ cada). Além disso, os *Aspergillus sp.* foram obtidos de diferentes localizações geográficas ($n = 19$) no globo (**Anexo II**). Nos últimos 10 anos, observou-se um crescimento exponencial do número de revisões científicas originais por pares de publicações na literatura, relatando metabólitos anti-inflamatórios de espécies de *Aspergillus.sp* (**Fig 5**). De acordo com a pesquisa bibliográfica realizada na presente revisão sistemática, e considerando os critérios de elegibilidade aplicados, setenta e sete artigos originais foram publicados de 1986 a 2021 investigando a atividade anti-inflamatória de metabólitos de *Aspergillus sp.*, de, onde 76 artigos (98,71%) foram publicados entre os anos 2009-2021.

Figura 5 - O aumento do número de publicações de de 1986 até 2021.



FONTE: Do Autor.

Figura 6 - A porcentagem de metabólitos anti-inflamatórios encontrados entre as diferentes espécies de *Aspergillus* (n = 19)



FONTE: Do Autor.

4.1.2 Cultivo e metabólitos de *Aspergillus sp.*

Em relação aos metabólitos de *Aspergillus sp.* (**Figura 6**), 34 foram isolados de *A. terreus* (13%), 25 de *A. niger* (10%), 20 de *A. fumigatus* (8%), 20 de *A. europaeus* (8%), 16 de *A. flocculosus* (6%), 10 de *A. versicolor* (4%), 10 de *A. sidowii* (4%), 10 de *A. falconensis* (4%), 9 de *A. flavus* (3%), 8 de *A. ochraceopetaliformis* (3%), 7 de *A. ochraceus* (3%), 4 de *A. austroafricanus* (2%), 3 de *A. violaceofuscus* (1%) e 3 de *A. sojae* (1%). Dentro adição, 3 metabólitos de *A. novofumigatus* e 4 de *A. flavipes*, *A. nidulans* (2 cada) e mais 1 de *A. ruber* são descritos juntos em outra categoria (3%). Adicionalmente, 71 metabólitos foram encontrados em regiões desconhecidas ou não identificadas. espécies de *Aspergillus* (28%). Para as etapas de fermentação fúngica dos diferentes cepas de *Aspergillus sp.*, a maioria dos autores (n = 44; 57,14%) cultivada em ágar batata dextrose ou meio líquido dextrose batata, enquanto outros usaram diferentes tipos de meios, incluindo arroz e água salinizada média ou malte e extrato de glicosídeo de levedura (n = 33; 42,85%). Dependendo da escolha do meio utilizado pelo autor, a maioria empregou água salina estéril e sais artificiais (por exemplo, KH_2PO_4 , MgSO_4 e NaCl) para suspensões de cepas marinhas antes do cultivo de fungos. A incubação foi realizada em placas de meio sólido (por exemplo, Placas de Petri) por períodos que variaram entre 3-7 dias para os diferentes (n = 77) artigos avaliados. Subsequentemente,

fermentações em escala foram realizadas principalmente em glicosilados caldo de batata ou uma mistura de arroz e estéril água salgada. Em geral, o período final de incubação variou de 21 a 40 dias e as temperaturas variaram de 25 a 30 °C, antes da próxima etapa de preparação de extratos brutos.

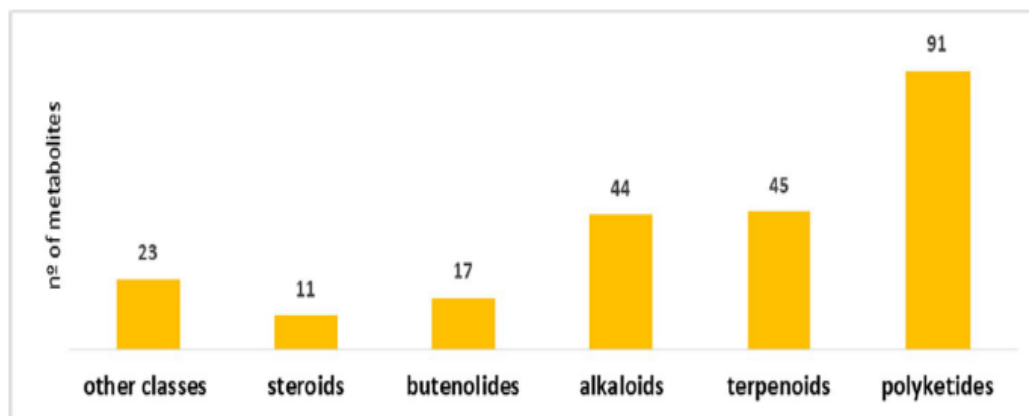
4.1.3 Metabólitos anti-inflamatórios de *Aspergillus sp.*

De todos os artigos submetidos à extração e revisão de coleta de dados, 231 diferentes metabólitos foram identificados a partir das diferentes espécies de *Aspergillus* com ação anti-inflamatória. Esta atividade farmacológica foi relatada em um grande número de compostos formados por diferentes classes estruturais (**Anexo VI**). A maioria das espécies de fungos foi de: origem marinha (56,1%), endófitos (30,1%). Outras eram de fontes ambientais divergentes (**Anexo IV**), como solo e sedimentos (13,7%). Do ponto de vista químico (**Fig 7**), 11 compostos eram espécies de esteroides (4,76%), 17 butenolídeos (7,36%), 44 alcalóides (19,05%), 45 terpenóides (19,48%), 91 policetídeos (39,39%) e 23 eram de outras classes (compostos fenólicos, peptídeos, ácidos orgânicos, polissacarídeos, micotoxinas e pigmentos, 9,96%). Além disso, todos esses metabólitos de *Aspergillus* foram testados por experimentos *in vitro* (n = 77, 100%), e apenas três artigos também realizaram uma avaliação *in vivo* (1,1.29%). De acordo com a AADB criada (**Anexo IV**), o agente indutor inflamatório mais aplicado nos estudos (54, 70,12%) foi o lipopolissacarídeo (LPS), enquanto a *N*-formil-metionil-leucil-fenilalanina e CuSO₄ foram menos usados (2, 2.59%).

Um estudo particular de El-Kashef *et al.* (2020) usaram a citocina TNF- α (1, 1,30%) para ativar a sinalização NF- κ B, enquanto 18 estudos não especificaram quais foram os indutores inflamatórios, e alguns deles não foram apropriados para o ensaio; assim foram classificados como ND* (não definido, 23,37%). Sobre os principais alvos anti-inflamatórios detalhados na AADB (**Anexo IV**), 134 metabólitos diferentes inibiram a síntese de óxido nítrico induzível via de óxido (iNOS-NO), 42 a via COX/LOX, 65 diferentes interleucinas pró-inflamatórias (IL-1 e/ou IL-6) ou citocina (TNF- α), e 40 inibiram a via NF- κ B (**Fig 8**). Mais especificamente, 80 metabólitos inibiram exclusivamente a iNOS-NO (37,7%), enquanto 22 inibiram a COX-PGE₂ ou via LOX-LTB₄ (10,4%); 48 a IL-1, IL-6 ou a citocina TNF- α (22,6%); e 9 apenas promoveram inibição da via NF- κ B (4,2%);. Outros mostraram ser capaz de inibir mais de uma via, por exemplo 20 (9,4%) inibiram NF- κ B e iNOS-NO(**Fig 8**). Portanto, os

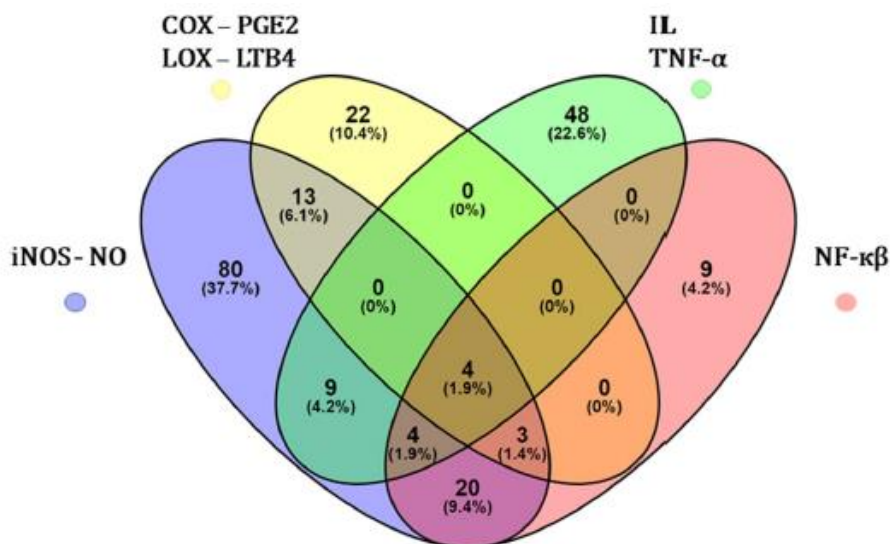
metabólitos anti-inflamatórios de *Aspergillus* representam uma rica fonte de compostos anti-inflamatórios, que podem atuar por diferentes mecanismos de ações anti-inflamatórias.

Figura 7 - O número de metabólitos com atividade anti-inflamatória em espécies de *Aspergillus*



FONTE: Do Autor.

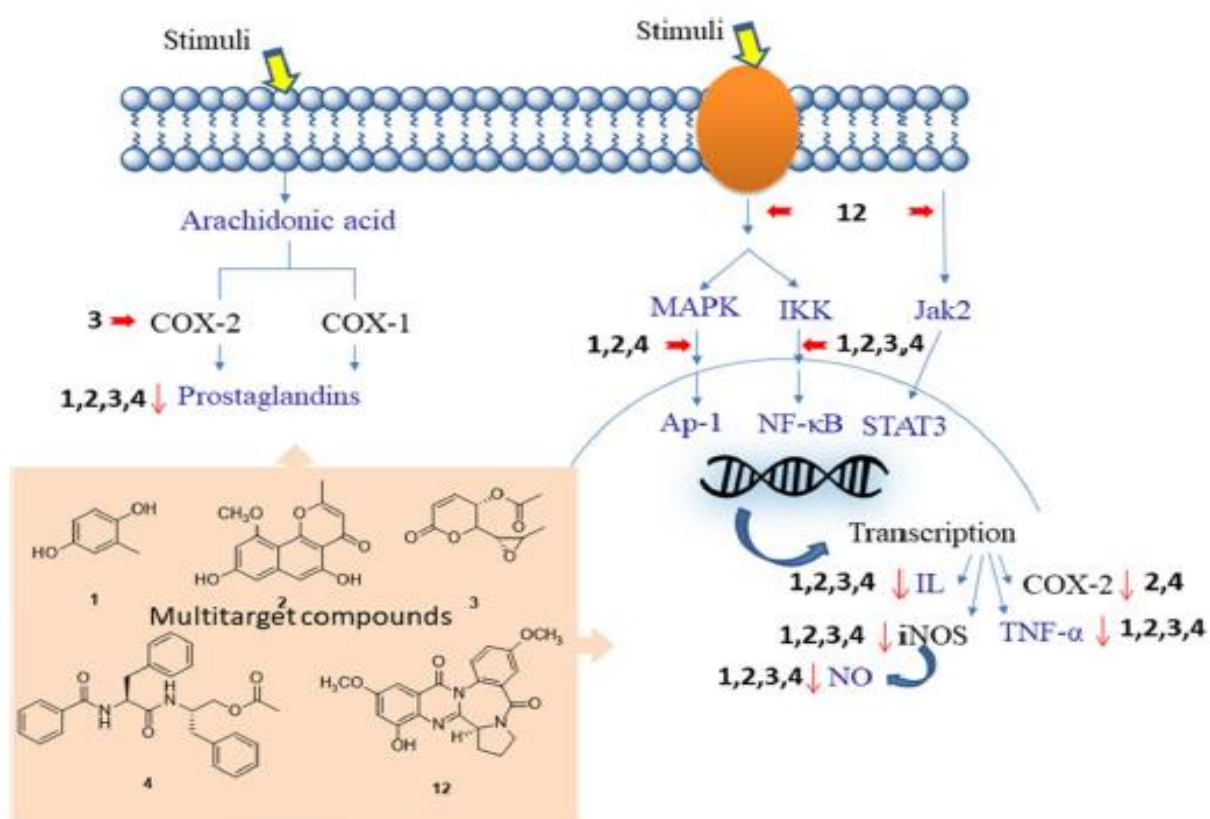
Figura 8 - O diagrama de Venn indica o número total de substâncias relatadas para *Aspergillus sp.* que demonstraram ser capazes de atuar em alvos anti-inflamatórios. Quatro substâncias demonstraram ser capazes de atuar em todos esses alvos (iNOS-NO, COX/LOX, interleucinas e citocina TNF- α e NF- κ B).



FONTE: Elaborada pelo autor (2021)

Além disso, quatro das imagens das estruturas químicas 1-12 podem ser do mesmo tamanho. A imagem da substância 12 é maior, as substâncias 1-4 tamanho médio e o 5-11 menor que os outros – um derivado fenólico, toluhidroquinona (**1**), dois policetídeos, TMC-256C1 (**2**) e asperlina (**3**), e um peptídeo derivado, acetato de aurantiamida (**4**) — merecem atenção especial, pois podem inibir todos os alvos e mecanismo anti-inflamatórios investigados nesta revisão (**Figs. 8 e 9**), e assim seus “scaffolds químicos”, podem ser considerados promissores para compostos anti-inflamatórios multialvos na descoberta de medicamentos.

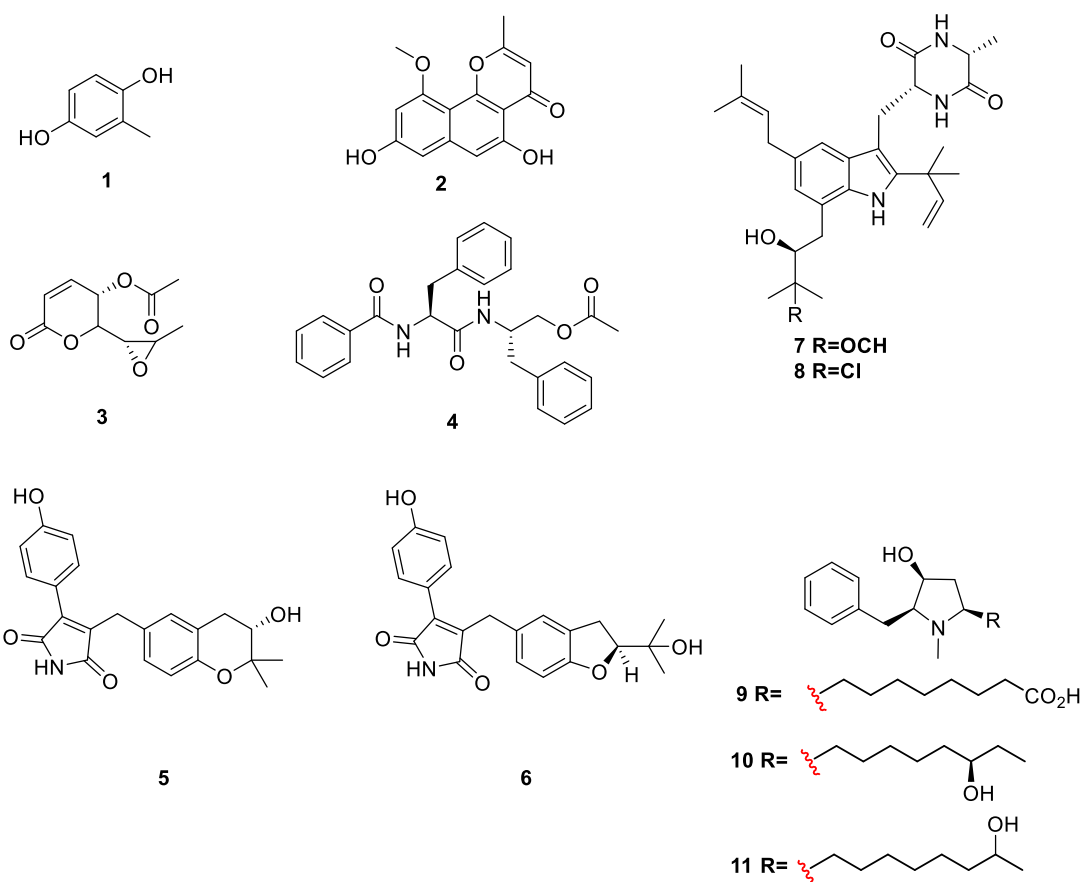
Figura 9 - As principais vias afetados pelos compostos multi-alvos toluhidroquinona (1), TMC-256C1 (2), asperlina (3), acetato de aurantiamida (4) e alcalóide circundatina D (12). Ciclooxygenase (COX), proteína ativada por mitógenoquinases (MAPK), quinase IκB (IKK), Janus quinase (Jak), transcrição da proteína ativadora 1 (AP-1) fator Ap-1, nuclear fator kappa B NF-κB, STAT2, interleucina (IL), nítrico induzível óxido sintase (iNOS), tumor fator de necrose-α (TNF-α), óxido nítrico (NO), c-Jun N-terminal quinase (JNK) é da via MAPK (é omitido).



FONTE: Elaborada pelo autor (2021)

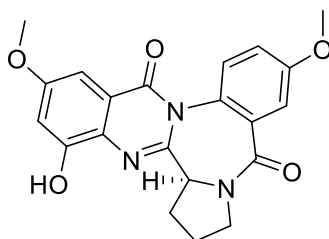
4.1.4 Principais compostos anti-inflamários

Os melhores valores de IC_{50} para metabólitos em termos de inibição de iNOS-NO foram fornecidos por alcalóides. Entre eles, asperimidinas C (**5**) e D (**6**), 5-prenil-dihidrorubrumazina A (**7**) e 5-prenil-dihidrovariecolorina F (**8**) exibiram as atividades mais potentes com IC_{50} de 0,78, 1,26, 2,8 e 4,2 μM , respectivamente (KWON *et al.*, 2017; LIAO *et al.*, 2018). Os alcalóides também mostraram as atividades mais fortes na inibição da liberação de interleucina pró-inflamatória IL-6, como as preussinas G (**9**), I (**10**) e J (**11**) apresentando valores de IC_{50} 0,11, 0,19 e 2,3 μM , respectivamente (GU *et al.*, 2018). Os esteróides ergosterdiácidos A e B com IC_{50} de 4,5 e 3,6 μM , respectivamente, também mostraram uma forte inibição de iNOS-NO (LIU *et al.*, 2018).



Alguns policetídeos inibem significativamente a ativação de NF-K β , por exemplo a yicatina B, metilemodina, eurobenzofenona B e dermoluteína que têm taxas inibitórias de $81,2 \pm 8,3$, $75,9 \pm 8,3$, $74,9 \pm 3,8$ e $73,1 \pm 12,7\%$, respectivamente, na melhor dose avaliada 10 μM ; (DU *et al.*, 2018). O composto fenólico 5-[(3E,5E)-3,5-

nonadienil]-1,3-benzenodiol e o alcalóide circumdatina D (**12**) também inibiram a ativação de NF- κ B com IC₅₀ de 6,0 \pm 0,5 e 8,7 \pm 1,3 μ M, respectivamente (WEN *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2020).



12

Os policetídeos também exibiram as atividades mais potentes na inibição de COX-2, e. diorcinol, 5,5'-oxibis(3-metilfenol), 6,8,1'-tri18-O-metilaverantina, 14,15-secocurricularina, aurasperona C, aurasperona A, cordyol C e 3-(3-hidroxi-5-metilfenoxi)-5-metilbenzeno-1,2-diol que exibiram o IC₅₀ valores de 2,4, 2,4, 2,6, 2,7, 4,2, 6,4, 7,1 e 7,1 μ M, respectivamente (FANG *et al.*, 2016; KIM *et al.*, 2018; TIAN *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2017). No geral, notou-se que NO e IL-6 tiveram os melhores inibições por alcalóides, enquanto as vias NF- κ B e COX-2 alcançaram as melhores taxas de inibição por estruturas policetídicadas em estudos *in vitro*.

4.1.5 Compostos multi-alvos *Aspergillus*

Sendo assim, é relevante destacar os estudos dos compostos multi-alvos que se mostraram capazes de atuar nos quatro alvos anti-inflamatórios (**Figs. 8 e 9**). Hwang *et al.* 2015, investigou o perfil anti-inflamatório dos compostos fenólicos toluhidroquinona (**1**), que foi relatado com um efeito antioxidante, efeito anti-angiogênese sobre células endoteliais de *videira umbilical* humana (KIM *et al.*, 2015) e efeito antibacteriano contra *Staphylococcus multirresistente aureus* (LEUTOU *et al.*, 2012). O Composto (**1**) mostrou IC₅₀ de 4 μ M e diminuição da liberação de PGE₂ com dose dependente em células RAW264.7 estimuladas por LPS. Além disso, diminuiu a expressão pró-inflamatória, incluindo de TNF- α , IL-1 β e IL-6 em concentrações variando de 2 a 10 μ M e inibiu a ativação de NF- κ B e translocação do citosol dentro do núcleo das células nas concentrações 5 e 10 μ M (HWANG *et al.*, 2015). Este composto suprimiu a expressão proteica de iNOS e COX-2, de forma dose-dependente, além de reduzir fosforilação de fosfatidilinositol 3-quinase/proteína quinase B (PI3K/Akt), NF- κ B e proteína ativada por mitógeno quinases (MAPK). NF- κ B, Akt e MAPKs que são bem

conhecidos com papéis centrais para respostas pró-inflamatórias (HWANG *et al.*, 2015). Assim, este composto de fato tem um potencial multialvo para agentes anti-inflamatórios, como apontado anteriormente no diagrama de Venn junto com os policetídeos (2 e 3) e o derivado peptídico (4) (Fig.8 e 9).

O policetídeo marinho TMC-256C1 (2) apresentou um efeito anti-neuroinflamatório na microglia de células BV2 estimulada por LPS e preveniu a neurotoxicidade estimulada pelo glutamato em células HT22 do hipocampo de camundongos. Este policetídeo parece ser capaz de estimular uma resistência celular ao dano oxidativo desencadeado por citotoxicidade induzida de glutamato e geração de espécies de oxigênio em células HT22. Esses neuroprotetores e efeitos anti-neuroinflamatórios foram associados com expressão aumentada de heme oxigenase (HO)-1 e translocação nuclear do fator 2 relacionado ao fator nuclear E2 (Nrf2) nas células avaliadas (HT22 e BV2). A regulação positiva da expressão da proteína HO-1 provavelmente está aumentando níveis nucleares de Nrf2 através da ativação do PI3K/Akt e Vias MAPK (KIM *et al.*, 2016). Tem sido relatado que HO-1 fornece a ação anti-inflamatória suprimindo a produção de fatores pró-inflamatórios como o TNF- α e IL-1 β e suprime a expressão de mediadores pró-inflamatórios como iNOS e COX-2 (KIM *et al.*, 2016). Além disso, 2 inibiu a produção de mediadores pró-inflamatórios induzida por LPS, como NO e PGE₂ via supressão de iNOS e expressão da proteína COX-2, a translocação nuclear de NF- κ B através da prevenção da fosforilação e degradação de inibidor kappa B- α (I κ B- α ; Fig. 10; (KIM *et al.*, 2016).

A asperlina (3) é outro policetídeo marinho com atividades anti-inflamatórias *in vitro*, incluindo a inibição de COX-2, inibição da fosforilação e degradação de I κ B- α da via NF- κ B, e diminuindo a expressão de iNOS e os níveis de NO, PGE₂, TNF- α e IL-1 β em RAW264.7 estimulado por LPS e células murinas peritoneais (LEE *et al.*, 2011; ZHOU *et al.*, 2017). Este composto inibiu significativamente a formação de “foam células”, induzidas por LPS e promoveu o efluxo de colesterol em células RAW264.7 (ZHOU *et al.*, 2017). Os níveis de expressão dos fatores pró-inflamatórios (iNOS, IL-1 β e TNF α) foram diminuídos, e a expressão de fatores anti-inflamatórios (IL-10 e IL-4) foi aumentada, indicando uma mudança na polarização dos macrófagos M1/M2. Além disso, experimentos *in vivo* usando administração oral deste policetídeo (3) por 12 semanas em dieta rica em gordura (HFD) ApoE^{-/-} camundongos mostraram supressão significativa na formação de placa aterosclerose na aorta, redução da dilatação da aorta e níveis séricos mais baixos de fatores pró-inflamatórios, mas mostraram pouco impacto

sobre os lipídios do sangue. Esses resultados sugeriram que **(3)** é adequado para prevenir a aterosclerose *in vivo* através efeitos anti-inflamatórios em vez de melhorar a dislipidemia (ZHOU *et al.*, 2017). Um exemplo recente da estratégia multi-alvo para a pesquisa de novos anti-inflamatórios, **(4)**, um peptídeo com propriedades anti-artríticas e analgésicas conhecidas, foi selecionado devido aos altos escores de correspondência farmacofórica para direcionamento de proteínas, catepsina K (CTSK) e metalopeptidase de matriz 9 (MMP9), de uma biblioteca de 2.241 proteínas humanas relacionadas à doença (YANG *et al.*, 2020).

Os resultados mostraram que o composto **(4)** atua na catepsina K (CTSK) e MMP9. A análise de docagem molecular mostrou que **(4)** e CTSK formaram ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, e interações π -sigma ou π -alquil com os dois fragmentos benzeno de anel. Por fim, por meio de experimentos *in vitro*, foi demonstrado que **(4)** tem potencial para o tratamento de osteoporose, uma vez que inibiu significativamente a diferenciação de osteoclastos e expressão das proteínas CTSK e MMP9 em osteoclastos (YANG *et al.*, 2020). Este composto **(4)** também demonstrou um efeito anti-neuroinflamatório, como relatado no composto 3, inibindo a produção de NO e PGE₂ em células microgлияis BV2 induzidas por LPS, aparentemente diminuem a expressão de iNOS, COX-2 e outras citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e TNF- α (YOON *et al.*, 2014). Demonstrando também ser capaz de bloquear a ativação de NF- κ B inibindo a fosforilação do I κ B- α . e inibição das vias c-Jun N-terminal kinase (JNK) e MAPKs também foram observadas (YOON *et al.*, 2014) (**Fig. 9**). O alcalóide circumdatina D **(12)** inibiu a ativação de NF- κ B com IC₅₀ de 8,7 \pm 1,3 μ M, respectivamente (ZHANG *et al.*, 2020), também demonstrou inibição da secreção de citocinas pró-inflamatórias em BV-2 induzido por LPS e células de microglia (ZHANG *et al.*, 2020). Este composto preveniu a neurotoxicidade induzida por LPS e a modulação JAK/NF- κ B mediada por “STAT” e “Toll-like receptor 4” (TLR4) e vias inflamatórias MAPK (ZHANG *et al.*, 2020). Desta forma, o composto **(12)** é um agente potencial para efeitos neuroprotetores identificados pela estratégia multi-alvo (**Fig.9**). Portanto, os metabólitos anti-inflamatórios de *Aspergillus* representam uma rica fonte de compostos bioativos, que podem atuar em diferentes mecanismos de ação anti-inflamatória.

4.1.6 Comparação com outros estudos

Além disso, tomando para comparação as outras revisões da literatura sobre metabólitos bioativos de fungos endofíticos, observou-se que havia artigos de revisão sobre o assunto de compostos anti-inflamatórios do gênero *Aspergillus*. Embora a literatura mais recente, como a abrangente revisão de Xu *et al.* (2019) sobre metabólitos anti-inflamatórios de uma série de fungos marinhos endofíticos, relataram 55 compostos de onze (n = 11) diferentes espécies marinhas de *Aspergillus sp.*, cujas classes de alcalóides, policetídeos e terpenóides foram os mais relevantes para o efeito anti-inflamatório, o que também foi apontado por nosso estudo. A recente revisão de El-hawary *et al.* (2020) sobre bioativos metabólitos de espécies do gênero *Aspergillus* descreveu 187 metabólitos químicos e padrões com um espectro diversificado de atividades biológicas, incluindo atividade anti-inflamatória, enquanto nossa revisão sistemática incluiu mais substâncias (n = 231). As espécies *A. fumigatus*, *A. terreus* e uma espécie não identificada de *Aspergillus* foi revista principalmente por El-hawary *et al.* (2020) e também relatado nesta revisão. Vasundhara *et al.* (2019) revisaram os principais bioativos metabólitos das mais conhecidas espécies de fungos endofíticos de diferentes gêneros que descrevem apenas 75 metabólitos com bioatividade, apenas 24 eram agentes anti-inflamatórios. Os extensos estudos de Li *et al.* (2018), foram centrados em metabólitos anticancerígenos e relataram 224 compostos de diferentes classes químicas de 109 cepas de diferentes fungos endofíticos, incluindo *Aspergillus sp.*

Assim, a literatura recente corrobora com a significância de compostos de origem fúngica e seu grande potencial para serem avaliados como novos candidatos a fármacos no tratamento de diferentes doenças. Além disso, até onde sabemos, esta é a primeira revisão sobre produtos naturais anti-inflamatórios de *Aspergillus* empregando dados sistemáticos de fungos como locais geográficos de coleta, organismos hospedeiros, meios de cultura, agentes indutores inflamatórios, as principais classes de produtos naturais responsáveis pela pronunciada atividade anti-inflamatória e os alvos anti-inflamatórios específicos envolvidos, bem como o respectivo IC₅₀ ou porcentagem de inibição medida. Isso é importante destacar que esta revisão sistemática acessou a qualidade dos trabalhos e permitiu apontar quatro substâncias com alto potencial para atividade anti-inflamatória multialvo e vários outros com inibição dupla ou mecanismo de ação simultâneo. Além disso, o mais promissor dos compostos de baixo valor de IC₅₀

e/ou porcentagens de inibição também foram destacados. Portanto, os dados apresentados e discutidos neste estudo podem orientar futuras investigações de potenciais candidatos para atividade anti-inflamatória, *in vivo*, QSAR, estudos de docking molecular e também estudos clínicos subsequentes em humanos como ensaios clínicos em caso de resultados pré-clínicos promissores.

4.1.7 Limitações

No presente estudo, foi descrito o maior número de metabólitos com propriedades anti-inflamatórias produzidos por *Aspergillus* da literatura, embora este estudo apresente algumas limitações. Primeiramente, apenas revisões de artigos originais em inglês foram analisadas na lista bibliográfica final, excluindo duas publicações inglesas. Da mesma forma, a literatura “cinzenta” e registros de patentes não foram incluídos; assim possíveis metabólitos bioativos com atividade anti-inflamatória que não foram relatados nas bases de dados indexadas investigadas podem estar ausentes. Além disso, alguns autores não relataram a citotoxicidade dessas substâncias. Vários outros estudos e publicações científicas isolaram metabólitos de *Aspergillus sp.*, e a atividade anti-inflamatória não foi avaliada, sendo assim, inúmeros dados de atividade biológica ainda podem ser desconhecidos. Esta hipótese é apoiado pelo baixo número de espécies de *Aspergillus* acessados para triagem de atividade anti-inflamatória na literatura, como demonstrado pelos nossos resultados, menos de 3% foram acessados quimicamente para bioatividade, 19 de 837 *Aspergillus sp.* (HAWKSWORTH, 2011).

Desta forma, a maioria dos artigos investigados nesta revisão realizou ensaios *in vitro* sistemáticos e, portanto, a avaliação da qualidade e relevância das metodologias *in vitro* foi incluída pelos autores para garantir uma descrição imparcial e confiável da literatura. Embora a literatura ainda necessite de uma ferramenta específica para relatar o risco de viés para a pesquisa *in vitro*, os autores desenvolveram critérios para investigar a qualidade dos estudos incluídos. Esta revisão realizou a descrição completa dos resultados (incluindo compostos inativos e ativos, quando aplicados), especificação do tipo de linhagem celular e relatório claro sobre condições do experimento (tempo de incubação, temperatura e concentração de agente indutor inflamatório) sendo consideradas as características mais relevantes do experimento *in vitro* para atribuir qualidade do estudo com quatro autores (AKN, KJN, JCC e MSF). Essas características

foram consideradas cruciais pelos autores para aumentar a reprodução e obter um melhor controle de erros. Ao aplicar os critérios de qualidade nos 77 estudos selecionados pelas diretrizes PRISMA, 17 realizaram todos os critérios (31,17%), 70 cumpriram pelo menos dois dos critérios (90,90%) e 77 (100%) pelo menos um critério. Os documentos originais das quatro substâncias indicadas pelo diagrama de Venn com potencial de atividade anti-inflamatória multialvo adquiriu resultados interessantes uma vez que todos os experimentos *in vitro* foram considerados bons.

4.1.8 Direções futuras

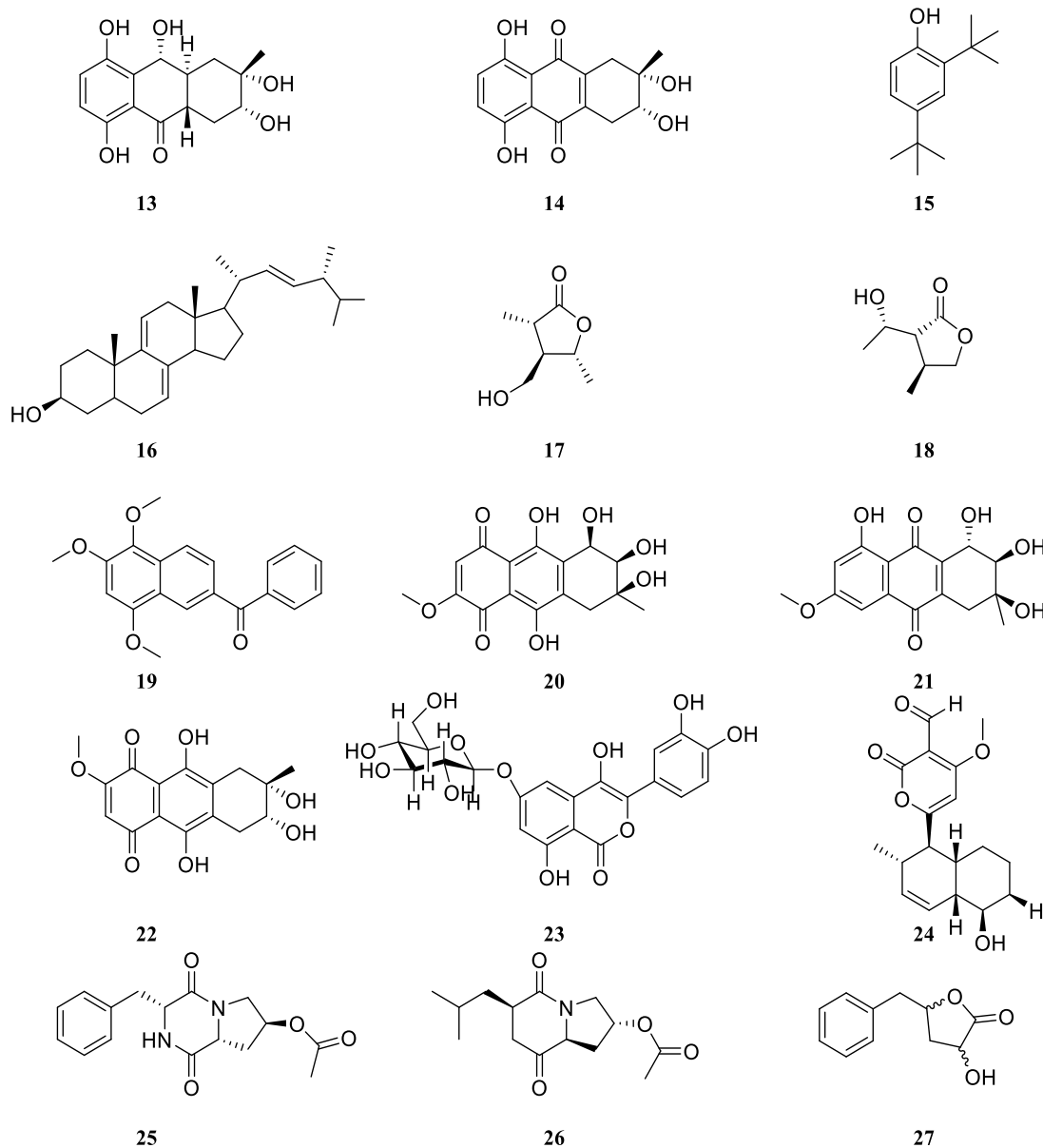
Os metabólitos isolados de espécies de *Aspergillus* merecem atenção devido ao grande potencial anti-inflamatório, como demonstrado pelos artigos avaliados nesta revisão sistemática. No entanto, ainda existem vários metabólitos descritos na literatura produzidos por espécies de *Aspergillus* que não foram avaliados em ensaios anti-inflamatórios. Além disso, a maioria desses metabólitos foi avaliada apenas em alguns alvos farmacológicos. Como informamos nesta revisão existem pelo menos quatro dos metabólitos de *Aspergillus* descritos na literatura que podem apresentar atividade com ação multi-alvo (diagrama de Venn, **Fig.8**). Assim, investigações anti-inflamatórias adicionais de metabólitos especializados produzidos por espécies de *Aspergillus* são extremamente importantes. Neste contexto, ensaios *in vivo* generalizados precisam ser realizados para corroborar o potencial uso terapêutico destes metabólitos anti-inflamatórios.

4.2 REVISÃO CLÁSSICA *NIGROSPORA*

4.2.1 Atividade biológica *Nigrospora*

Os fungos do gênero *Nigrospora* têm sido extensivamente estudados nos últimos trinta anos, sendo importantes recursos para a descoberta de novos produtos naturais bioativos (XU *et al.*, 2022). Até o momento, metabólitos secundários com diversos tipos de estrutura química e ricas bioatividades foram relatadas do gênero. As hidroantraquinonas Nigrosporona A (**13**) e Nigrosporona B (**14**) isoladas de *Nigrospora sp.* BCC 47789 mostram citotoxicidade seletiva para células de tecido pulmonar NCI-H187 com valores de IC₅₀ de 13,69 e 0,25 µM, respectivamente (KORNSAKULKARN

et al., 2018). Em outros estudos, 2,4-*Di-terc*-butilfenol (**15**) um fenol lipofílico relatado em pelo menos 169 espécies de organismos, plantas, fontes termais, solos e alimentos, mostrou citotoxicidade contra células HeLa com um valor de IC₅₀ de 10 µg/mL exibindo também efeito na indução de genes apoptóticos em linhagens de células cancerígenas, bem como a droga padrão Cisplatina (GAUTAM *et al.*, 2022; ZHAO *et al.*, 2020). Aparentemente várias classes de metabólitos secundários com efeitos citotóxicos foram encontrados em diferentes estudos, como em Metwaly et al, um esteroide (ergosta-7,9(14),22-trieno-3β-ol) (**16**) e duas lactonas 4-(hidroximetil)-3,5-dimetil di-hidrofuran-2(3H)-ona (**17**) e 3-(1-hidroxietil)-4-metil di-hidrofuran-2(3H)-ona (**18**) inibiram o crescimento de células HL60 e K562 com valores de IC₅₀ (0,39/0,35; 0,2/0,41 e 0,4/0,01 µM), respectivamente. Além disso, policetídeos como nigroneptafenil (**19**) e antraquinona bostricina (**20**) mostraram, respectivamente, suprimir significativamente o crescimento de A549, Hep-2, Hep G2, KB, MCF-7 e MCF-7/Adr e contra a linhagem celular de câncer de cólon HCT 116 (UKWATTA; LAWRENCE; WIJAYARATHNA, 2019).



Outra antraquinona 4-desidroxialtersolanol A (**21**) descrita por Zhang et al mostrou efeitos inibitórios sobre o vírus influenza A H1N1 e citotoxicidade em células MDK. A desoxibostricina (**22**), uma fitotoxina previamente relatada de *Alternaria eichorniae*, mostrou um crescimento diminuído de células de linfoma de camundongo L5178Y em Kjer 2009. Além disso, em Xia et al, a desoxibostricina demonstrou suprimir significativamente o crescimento de linhagens de células tumorais humanas A549 e Hep G2 com valores IC_{50} de 2,44 e 4,41 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente. Além da atividade citotóxica, esta antraquinona mostrou diferentes propriedades biológicas, incluindo antibacteriana, fitotóxica, antimalárica e antimicobacteriana (Wang et al 2013). Das classes de metabólitos secundários analisados na revisão, podemos observar

que aproximadamente (24%) são compostos por antraquinonas e que dentre as propriedades biológicas observadas, a citotoxicidade é a mais proeminente (23%) entre as moléculas analisadas. Deve ser estabelecida uma relação entre esta classe de metabólitos secundários e sua atividade citotóxica, principalmente na inibição de células epiteliais isoladas do tecido mamário de adenocarcinoma metastático MCF-7, que se mostrou mais comum entre os diferentes estudos analisados.

Aparentemente, a maioria compostos isolados nos estudos não foram testados ou não apresentaram atividade significativa para os diferentes ensaios biológicos realizados. Novos estudos devem ser iniciados para entender a aplicabilidade dessas moléculas. Em (METWALY *et al.*, 2014), analisaram as atividades *in vitro* antileucêmica, antileishmania, antifúngica, antibacteriana e antimalárica de vinte compostos isolados de *N. sphaerica*, obtidos das superfícies esterilizadas de folhas frescas de *Vinca rosea* (Apocynaceae). Dos compostos isolados (n=20), apenas 8 (40%) apresentaram atividade estatisticamente significante para os testes aplicados. O conjunto de compostos não ativos, consistiu em esteróis, ácidos graxos, nucleosídeos, polifenóis e um derivado isocromeno caracterizado como Nigrospharearin A (23). Em um estudo do potencial antioxidante e investigação química de compostos fenólicos caracterizados de *N. sphaerica* (EHL2) obtidos de *Euphorbia hirta* (dudhi) L., (GAUTAM *et al.*, 2022) avaliaram o potencial antioxidante apenas do extrato bruto purificado. Compostos isolados e caracterizados por GC-MS como hidrocarbonetos alifáticos insaturados 17-Pentatriaconteno e 2,4-Di-*terc*-butilfenol possuem atividade antibacteriana e anticancerígena descrita na literatura (GAUTAM *et al.*, 2022). Em (ZHANG *et al.*, 2009), as substâncias isoladas e caracterizadas não foram testadas para qualquer atividade biológica.

Dentre as substâncias isoladas de espécies do gênero *Nigrospora*, a harzialactona A (24) apresentou atividade antileishmania contra *Leishmania amazonenses* descrita na literatura (BRAUN *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2009). Huang *et al.* isolou e avaliou novos compostos derivados de *N. camelliae-sinensis* S30 derivados do mangue *Lumnitzera littorea*, dois deles inéditos, Nigrosporoamida A (25) e B(26). Nenhum dos compostos apresentou atividade antimicrobiana ou neuroprotetora significativa (HUANG *et al.*, 2021). Nove compostos, incluindo 6 derivados de pirona, 2 lactonas cíclicas e 1 composto fenólico são isolados de *Nigrospora sp.* PSU-F18 derivado de *Annella sp.* por Trisuwan *et al.* As Nigrosporapironas A–D e cinco compostos conhecidos foram testados quanto à atividade antibacteriana e entre eles, apenas um

Nigrosporapirona A (27) exibiu alguma atividade satisfatória (TRISUWAN *et al.*, 2009). Neste contexto, a avaliação biológica de compostos isolados e caracterizados de espécies do gênero *Nigrospora* são um auxílio para o desenvolvimento de novos medicamentos no tratamento de diferentes patologias.

4.3 REPLICAÇÕES, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DAS COLÔNIAS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS.

A etapa primária de isolamento das colônias dos fungos endofíticos da espécie vegetal *P. pluviosa* (Leguminosae) resultou na obtenção de 12 linhagens puras. Após isolamento, os fungos foram incubados por 21 dias a 26°C em 250mL de meio Agar batata (PD). O rendimento em massa do extrato bruto após extração com acetato de etila foi avaliado (**Tabela 2**). O maior rendimento em massas nos extratos é um fator crucial para o isolamento e determinação estrutural por análises cromatográficas e espectrométricas. Os extratos brutos (**FPD4; FPD9; FPD10; FPD13; FPD14**) apresentaram maiores rendimentos, demonstrando serem potencialmente promissores para as etapas de determinação, isolamento e identificação dos compostos ativos.

Tabela 2- Rendimento dos extratos de fungos endofíticos provenientes de extração com solvente acetato de etila.

Rendimento do Extrato Bruto (mg)	Fungo Isolado
28,60	FPD1
53,80	FPD3
77,7	FPD4
17,30	FPD7
48,8	FPD8
91,7	FPD9
107,7	FPD10
16,8	FPD12
98,6	FPD13
59,9	FPD14
12,8	FPD18
14,8	FPD19

Após a elaboração dos extratos brutos através da extração em meios de cultivo das linhagens dos fungos purificados, os mesmos foram submetidos a ensaios biológicos. As cepas selecionadas foram fracionadas e direcionadas para análises de HPLC-UV-DAD, RMN ^1H ^{13}C e UPLC-ESI-QTOF-MS/MS. Todos os extratos gerados no processo de extração das linhagens purificadas e isoladas (**Tabela 2**) foram enviados para o teste anti-inflamatório. Das amostras enviadas, apenas os extratos das amostras FPD4 e FPD13 apresentaram atividade anti-inflamatória satisfatória. Além disso, os extratos selecionados apresentaram as maiores quantidades de massas obtidas quando cultivados em 250 mL de meio de cultura Batata Dextrose (PD) se mostrando promissores por seu maior rendimento. As cepas FPD4 e FPD13 foram posteriormente replicadas em escala semi-preparativa (5 – 10 L) proporcionando maiores rendimentos em massa do extrato bruto. Após a preservação em crio tubos, as cepas de fungos armazenados foram replicadas em meio de cultura específico Ágar Batata Dextrose (PDA) e incubadas por sete dias a 21°C. Após o período de incubação foi verificado que apenas as FPD13 apresentou crescimento no meio específico, este fato impossibilitou a continuação dos estudos com o restante das cepas isoladas. Durante o processo de replicação das amostras em triplicatas preservadas do extrato FPD4, diversas tentativas foram realizadas para o crescimento das cepas em meio específico PDA. Em nenhuma das tentativas houve crescimento fúngico, impossibilitando a continuação da pesquisa com o extrato do fungo FPD4.

4.3.1 Identificação do extrato FPD13

A Colocação filogenética e características morfológicas do fungo isolado FPD13 são mostrados em vermelho na árvore filogenética Bayesiana baseada na região ITS (**Anexo XII**). A árvore foi reconstruída usando o modelo GTR com um milhão de gerações da Rede Monte Carlo Markov. Os números nos ramos indicam as probabilidades posteriores de BI. O conjunto de dados para esta análise foi obtido de Wang *et al.* (2017) e o NCBI-GenBank (Samuels *et al.* 2010), e *Arthrinium vietnamense* IMI 99670 foi usado como o grupo externo. O isolado FPD13 é colocado dentro do clado *Nigrospora zimmermanii*, próximo a *N. zimmermanii* 44An (pp = 0,8, 99,65% de identidade NCBI-Blastn). Para as observações morfológicas a colônia FPD13 foi cultivada em PDA a 25°C por 30 dias. A presença de micélio aéreos juntamente com alguns conídios célios foram observadas. As características

morfológicas de FPD13 são semelhantes à cepa tipo *Nigrospora zimmermanii* CBS 290.62 (Wang *et al.* 2017), confirmando sua identificação filogenética.

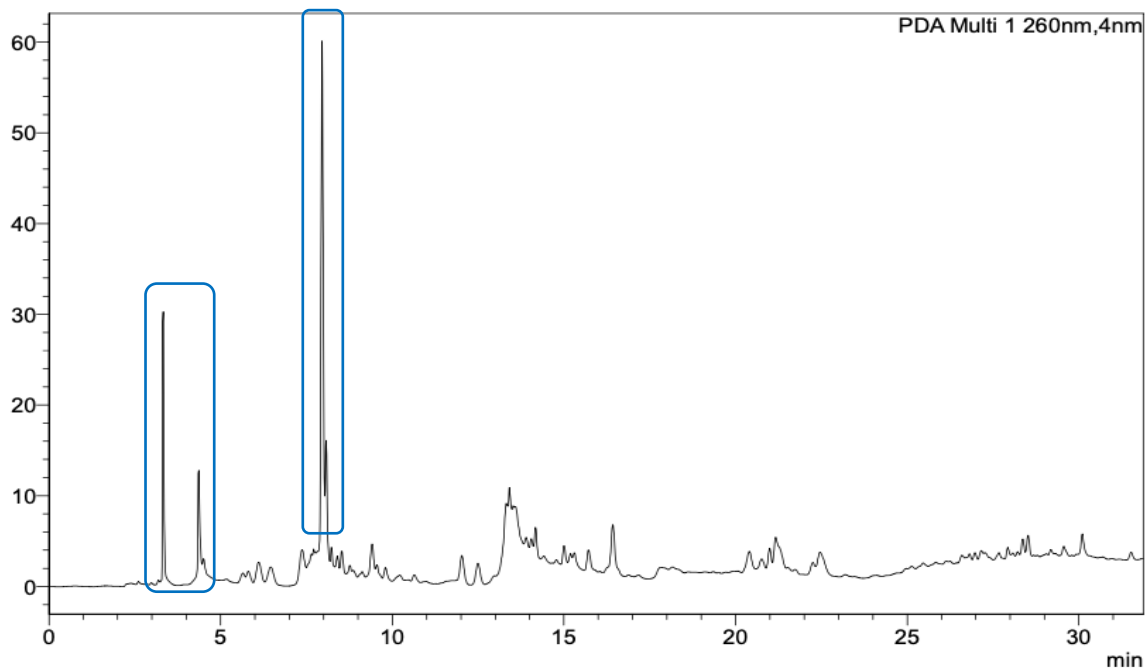
4.4. FITOQUÍMICA

4.4.1 Análises, isolamento e caracterização de metabólitos dos extratos

4.4.2.1 Extrato FPD4

A partir do cromatograma obtido em HPLC-UV-DAD (**Figura 10**) podemos observar a presença de compostos majoritários (picos com maiores áreas e intensidades). A diversidade química do extrato é representada pelos diversos compostos minoritários, relacionados com os picos de menores intensidades.

Figura 10 - Cromatograma HPLC-UV-DAD do extrato do fungo FPD4 em 260 nm. Método: (5 a 100% de B 30 min em um fluxo de 1 mL/min, com fase móvel de água milli-Q acidificada com 0.1% de ácido acético (A) e (B) ACN.



FONTE: Do autor

Por meio das análises dos espectros de massas obtidos do extrato FPD4 foi possível realizar a desreplicação do extrato, sendo suas substâncias majoritárias detectadas nos modos positivo e negativo (**Tabela 3**). Quando analisamos o espectro de massas de baixa energia no modo positivo, evidenciamos no tempo de retenção de

7.25min, o pico base com o íon precursor de m/z 600.4137 e fórmula molecular $C_{33}H_{53}N_5O_5$ (valor calculado m/z erro= 0.3 ppm) (**Figura.11**), Comparações realizadas com o estudo de Souza *et al*, 2016 disponível em <https://proceedings.science/cobeq/cobeq-2016/papers/ciclopeptideos-de-pseudofusicocum-sp>), foi possível detectar no espectro de massas MS2, fragmentos característicos de aminoácidos com valores característicos para 1 unidade de fenilalanina (**Phe**), 3 unidades de leucina (**Leu**) e 1 unidade de leucina (**Ile**), (**Fig. 11**). Através destes dados foi possível caracterizar o composto Ciclopeptídeo (Ciclo-Phe-Leu-Leu-Leu-Ile) (**Figura.11**). Este composto foi isolado pela primeira vez pelo pesquisador Li e colaboradores a partir de um fungo endofítico (não identificado) associado à *Avicennia marina*. O mesmo autor (LI *et al.*, 2004) relatou que este composto exibiu atividade inibitória contra linhagem de célula cancerígena de hepatoma humano Bel7402. Aparentemente podemos propor que FPD4 possa pertencer ao gênero *Pseudofusicocum sp.* uma vez que este gênero apresentou moléculas isoladas e anotadas semelhantes as encontradas na desreplicação do extrato FPD4. Além Disso, o mesmo fungo endofítico do gênero *Pseudofusicocum sp.*, já havia sido encontrado em território brasileiro. Outros quatro picos de alta intensidade (e^5) no modo positivo e outros dois no modo negativo, que estão descritos na **Tabela 3**, foram caracterizados por comparação dos espectros de massas MS1 com os bancos de dados disponíveis (DNP) e (BDI).

Tabela 3 - .Desreplicação dos compostos do extrato FPD4

(continua)

m/z	Composto	FM	ESI	Rf (min)	Erro (mDa)	IFIT Norm	m/z^2
600.4137	Ciclo-Phe-Leu-Leu-Leu-Ile	$C_{33}H_{53}N_5O_5$	$M+H^+$	7.25	2.1	0.178	487.3282/
284.2004	2-(dec-5-en-1-yl)quinolin-4(1H)-one	$C_{19}H_{25}NO$	$M+H^+$	6.49	1.1	0.001	144.0799
198.1119	Ácido Tenuazonico/Ácido Isotenuazonico	$C_{10}H_{15}NO_3$	$M+H^+$	3.70	1.1	0.074	-
586.3973	Epicoccamide D	$C_{31}H_{55}NO_9$	$M+H^+$	6.95	2.9	0.490	-

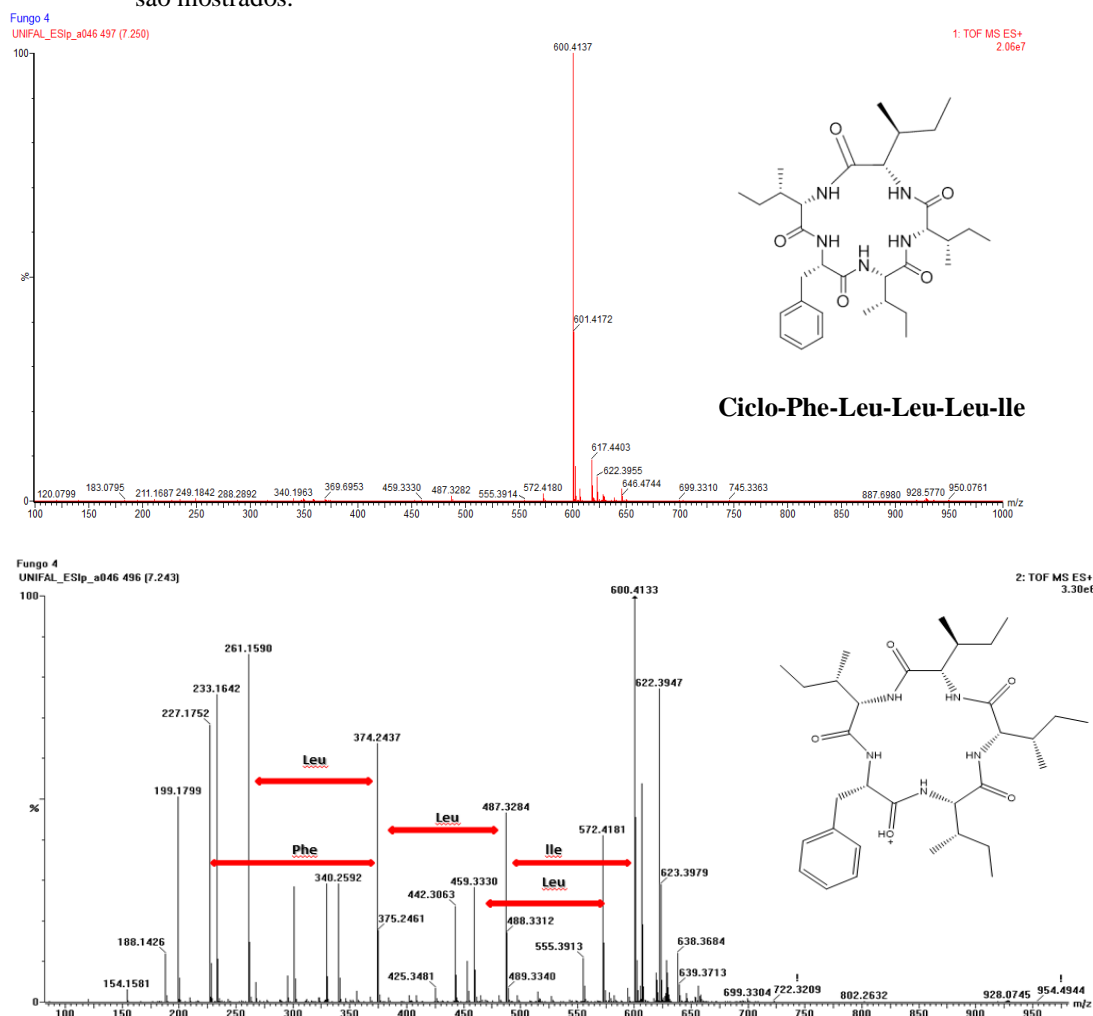
Tabela 3 - Desrepliação dos compostos do extrato FPD4

(conclusão)

m/z	Composto	FM	ESI	Rf (min)	Erro (mDa)	IFIT Norm	m/z^2
339.233	2,2'-Methylenebis(4-methyl-6-tert-butylphenol)	$C_{23}H_{31}O_2$	M- H	9.05	0.1	0.160	163.11/164.11
644.4014	N-benzyl,N-butyl,N-methyl-((S)-8-[(2'-O-β-glucopyranosyl-β-glucopyranosyl)-oxy])nonan	$C_{33}H_{58}NO_{11}$	M- H	7.18	1.0	0.124	-

FONTE: Do Autor.

Figura 11 - Espectro UPLC-ESI-QTOF-MS1/MS2 evidenciando a presença do ciclopeptídeo Ciclo-Phe-Leu-Leu-Leu-Ile, com tempo de retenção de 7.25min, íon precursor de m/z 600.4137, fórmula molecular $C_{33}H_{53}N_5O_5$. Seus fragmentos característicos, 1(uma) unidade de fenilalanina (**Phe**), 3 unidades de leucina (**Leu**) e 1 unidade de Isoleucina (**Ile**) também são mostrados.



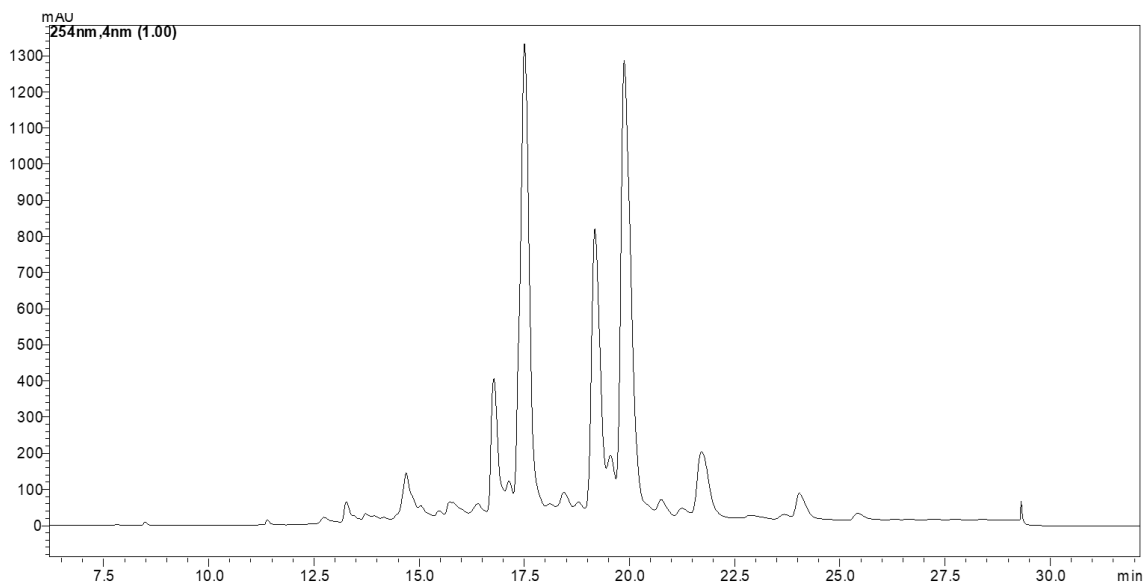
FONTE: Do Autor.

Para o isolamento do composto caracterizado na desreplicação uma nova produção do Extrato bruto de FPD4 foi necessária. Durante o processo de replicação das amostras em triplicatas preservadas de FPD4, diversas tentativas foram realizadas para o desenvolvimento das cepas em meio específico PDA. Em nenhum dos procedimentos houve crescimento fúngico, impossibilitando a continuação da pesquisa com a cepa FPD4.

4.4.3 Extrato FPD13

O cromatograma HPLC-DAD do extrato bruto FPD13 (**Fig.12**) foi observado que devido a média complexidade do perfil químico do extrato, pode-se concluir que a separação por método preparativo com sistema isocrático, não foi permitida, sendo necessário para um melhor isolamento dos compostos, o fracionamento do extrato bruto (**Figura 4**).

Figura 12 - Cromatograma HPLC-UV-DAD do extrato FPD13 em 254 nm. Método: (5 a 100% de B 30 min em um fluxo de 1 mL/min, com fase móvel de água milli-Q acidificada com 0,1% de ácido acético (A) e (B) ACN.



FONTE: Do autor

Após o fracionamento, a fração II (50:50 Metanol/H₂O)(1mg/mL) juntamente com o extrato FPD13 foram analisados em UPLC-ESI-QTOF-MS (**Figura.13**), os espectros obtidos, foram desreplicados por comparação dos dados de massas com BDI. O número de hits encontrados na comparação identificou 75 compostos (**Tabela 4**).

Dentre os compostos desreplicados três foram isolados do extrato FPD13/Fração II (**Figura 24**). O espectro de massas obtido MS1/MS2 (**Figura 14**) mostra no tempo de retenção 3.17min, o íon precursor de m/z 251.1289 e seus respectivos fragmentos, apresentando fórmula molecular $C_{14}H_{20}O_4$ (erro $m/z = 0.1$ ppm). Através de comparação dos dados com a literatura (BDI), foi possível caracterizar o composto como nigrosporolide (**Figura. 24**).

Tabela 4 - Desreplicação de dados por comparação com banco de dados interno (BDI)

(Continua)

[M-H]	Compostos	FM	RT	hits	Classes
153.0553	(-)-phomalactone/ (+)- phomalactone/ 5(S)-[1-(1- hydroxybut-2-enyl)]-furan-2-one	C8H10O3	2.24	3	terpenóides
153.0556	(-)-phomalactone/ (+)- phomalactone/ 5(S)-[1-(1- hydroxybut-2-enyl)]-furan-2-one	C8H10O3	1.51	3	terpenóides
153.0556	(-)-phomalactone/ (+)- phomalactone/ 5(S)-[1-(1- hydroxybut-2-enyl)]-furan-2-one	C8H10O3	2.21	3	terpenóides
153.0562	(-)-phomalactone/ (+)- phomalactone/ 5(S)-[1-(1- hydroxybut-2-enyl)]-furan-2-one	C8H10O3	1.67	3	terpenóides
263.1280	(+)-abscisic acid/ (S)-abscisic acid	C15H20O4	4.65	2	terpenóides
263.1287	(+)-abscisic acid/ (S)-abscisic acid	C15H20O4	3.98	2	terpenóides
263.1289	(+)-abscisic acid/ (S)-abscisic acid	C15H20O4	3.30	2	terpenóides
269.0454	1, 3, 7-trihydroxy-6- methylantraquinone/ 1, 3, 6- trihydroxy-8- methylantraquinone	C15H10O5	3.71	2	antraquinona
144.0451	Indole-3-carboxaldehyde	C9H7NO	2.68	1	alcalóide
144.0458	Indole-3-carboxaldehyde	C9H7NO	1.62	1	alcalóide
301.0713	2, 5, 7-trihydroxy-4-(30 - methylbut-20 -en-10 -yl) oxy-2H- naphtho [1, 8-b c] furan-9- one	C16H14O6	3.71	1	terpenóides

Tabela 4 - Desreplacção de dados por comparação com banco de dados interno (BDI)

(continuação)

[M-H]	Compostos	FM	RT	hits	Classes
301.0717	2, 5, 7-trihydroxy-4-(30 – methylbut-20 -en-10 -yl) oxy-2H-naphtho [1, 8-b c] furan-9- one	C16H14O6	3.9	1	terpenóides
485.2525	2,3-didehydro19?-hydroxy-14-epicochlioquinone B	C28H38O7	4.37	1	policetídeo
485.2531	2,3-didehydro19?-hydroxy-14-epicochlioquinone B	C28H38O7	6.00	1	policetídeo
485.2536	2,3-didehydro19?-hydroxy-14-epicochlioquinone B	C28H38O7	4.59	1	policetídeo
485.2542	2,3-didehydro19?-hydroxy-14-epicochlioquinone B	C28H38O7	9.45	1	policetídeo
195.0660	2-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid methyl ester, Clavatol, Hydroxipestalopyrone	C10H12O4	2.69	3	terpenóides
195.0660	2-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid methyl ester, Clavatol, Hydroxipestalopyrone	C10H12O4	2.29	3	terpenóides
195.0661	2-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid methyl ester, Clavatol, Hydroxipestalopyrone	C10H12O4	2.41	3	terpenóides
195.0664	2-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid methyl ester, Clavatol, Hydroxipestalopyrone	C10H12O4	3.30	3	terpenóides
193.0504	3,4-dihydro-3,4,8-trihydroxy-1[2H]-naphthalenone,4,6,8-trihydroxy-3,4-dihydronaphthalen-1(2H)-one (6-hydroxyisosclerone), 4-hydroximellein, 6-hydroximellein	C10H10O4	1.56	4	antraquinona

Tabela 4 - Desreplacação de dados por comparação com banco de dados interno (BDI)

[M-H]	Compostos	FM	RT	hits	(continuação) Classes
193.0505	3,4-dihidro-3,4,8-trihidroxy- 1[2H]-naphthalenone,4,6,8- trihidroxy-3,4-dihidronaphthalen- 1(2H)-one (6-hydroxyisosclerone), 4-hydroximellein, 6- hydroximellein	C10H10O4	2.11	4	antraquinona
193.0505	3,4-dihidro-3,4,8-trihidroxy- 1[2H]-naphthalenone,4,6,8- trihidroxy-3,4-dihidronaphthalen- 1(2H)-one (6-hydroxyisosclerone), 4-hydroximellein, 6- hydroximellein	C10H10O4	3.16	4	antraquinona
193.0505	3,4-dihidro-3,4,8-trihidroxy- 1[2H]-naphthalenone,4,6,8- trihidroxy-3,4-dihidronaphthalen- 1(2H)-one (6-hydroxyisosclerone), 4-hydroximellein, 6- hydroximellein	C10H10O4	2.43	4	antraquinona
193.0507	3,4-dihidro-3,4,8-trihidroxy- 1[2H]-naphthalenone,4,6,8- trihidroxy-3,4-dihidronaphthalen- 1(2H)-one (6-hydroxyisosclerone), 4-hydroximellein, 6- hydroximellein	C10H10O4	1.97	4	antraquinona
193.0508	3,4-dihidro-3,4,8-trihidroxy- 1[2H]-naphthalenone,4,6,8- trihidroxy-3,4-dihidronaphthalen- 1(2H)-one (6-hydroxyisosclerone), 4-hydroximellein, 6- hydroximellein	C10H10O4	1.61	4	antraquinona

Tabela 4 - Desreplacção de dados por comparação com banco de dados interno (BDI)

[M-H]	Compostos	FM	RT	hits	(continuação) Classes
177.0554	3,4-dihydro-4,8-dihydroxy,1(2H)-naphthalenone, mellein	C10H10O3	3.96	2	antraquinona, cromona
177.0560	3,4-dihydro-4,8-dihydroxy,1(2H)-naphthalenone, mellein	C10H10O3	2.82	2	antraquinona, cromona
177.0560	3,4-dihydro-4,8-dihydroxy,1(2H)-naphthalenone, mellein	C10H10O3	4.64	2	antraquinona, cromona
177.0560	3,4-dihydro-4,8-dihydroxy,1(2H)-naphthalenone, mellein	C10H10O3	4.62	2	antraquinona, cromona
257.0456	3,6,8-trihydroxy-1-methylxanthone	C14H10O5	3.91	1	xantona
271.0611	3,8-dihydroxy-6-methoxy-1-methylxanthone	C15H12O5	3.52	1	xantona
123.0444	3-hydroxymethyl-phenol	C7H8O2	2.18	1	terpenóides
123.0449	3-hydroxymethyl-phenol	C7H8O2	2.29	1	terpenóides
123.0450	3-hydroxymethyl-phenol	C7H8O2	1.69	1	terpenóides
123.0454	3-hydroxymethyl-phenol	C7H8O2	1.60	1	terpenóides
147.0447	3-isochromanone	C9H8O2	2.35	1	cromona
323.1133	4- deoxytetrahydrobostrycin/ Xylantraquinone/ 9?- hydroxydihydrodesoxybostrycin	C16H20O7	2.37	3	xantona
299.2589	4-Hydroxy-18 carbonic acid	C18H36O3	7.97	1	ácidos graxos
299.2591	4-Hydroxy-18 carbonic acid	C18H36O3	9.08	1	ácidos graxos
299.2592	4-Hydroxy-18 carbonic acid	C18H36O3	9.31	1	ácidos graxos
299.2594	4-Hydroxy-18 carbonic acid	C18H36O3	7.93	1	ácidos graxos

Tabela 4 - Desrepliação de dados por comparação com banco de dados interno (BDI)

[M-H]	Compostos	FM	RT	hits	Classes
137.0243	4-hydroxybenzoic acid/ p-hydroxybenzoic acid	C7H6O3	1.93	2	ácido benzóico
137.0244	4-hydroxybenzoic acid/ p-hydroxybenzoic acid	C7H6O3	1.74	2	ácido benzóico
137.0244	4-hydroxybenzoic acid/ p-hydroxybenzoic acid	C7H6O3	2.85	2	ácido benzóico
209.0811	4-hydroxyphenethyl 2-hydroxypropanoate	C11H14O4	2.70	1	terpenóides
209.0813	4-hydroxyphenethyl 2-hydroxypropanoate	C11H14O4	2.43	1	terpenóides
209.0821	4-hydroxyphenethyl 2-hydroxypropanoate	C11H14O4	3.99	1	terpenóides
209.0824	4-hydroxyphenethyl 2-hydroxypropanoate	C11H14O4	1.67	1	terpenóides
205.0620	5-(4'-hydroxybenzyl) hydantoin	C10H10N2O3	1.54	1	alcalóide
205.0621	5-(4'-hydroxybenzyl) hydantoin	C10H10N2O3	1.36	1	alcalóide
205.0623	5-(4'-hydroxybenzyl) hydantoin	C10H10N2O3	2.64	1	alcalóide
155.0711	5-(S)-[1-(1(S)-hydroxybut-2-enyl)]-dihydrofuran-2-one/ Nigrosporalactone	C8H12O3	2.52	2	terpenóides
155.0717	5-(S)-[1-(1(S)-hydroxybut-2-enyl)]-dihydrofuran-2-one/ Nigrosporalactone	C8H12O3	2.23	2	terpenóides
191.0343	5,8-dihydroxy-4-methyl-coumarin	C10H8O4	2.89	1	cromona
191.0346	5,8-dihydroxy-4-methyl-coumarin	C10H8O4	2.46	1	cromona
191.0349	5,8-dihydroxy-4-methyl-coumarin	C10H8O4	3.55	1	cromona
134.0475	Adenine	C5H5N5	0.64	1	nucleosídeo
266.0882	Adenosine	C10H13N5O4	0.45	1	nucleosídeo
235.1337	aplysiopsene D	C14H20O3	3.26	1	pirona
235.1341	aplysiopsene D	C14H20O3	5.50	1	pirona
179.0715	benzeneethanol 4-hydroxy-1-acetate/ pestalopyrone	C10H12O3	3.21	2	pirona
209.0446	cis-4-Hydroxyscytalone	C10H10O5	2.44	1	antraquinona
209.0455	cis-4-Hydroxyscytalone	C10H10O5	2.18	1	antraquinona
209.0458	cis-4-Hydroxyscytalone	C10H10O5	1.61	1	antraquinona
197.0819	decastrictine A2	C10H14O4	5.52	1	terpenóides

Tabela 4 - Desreplicação de dados por comparação com banco de dados interno (BDI)

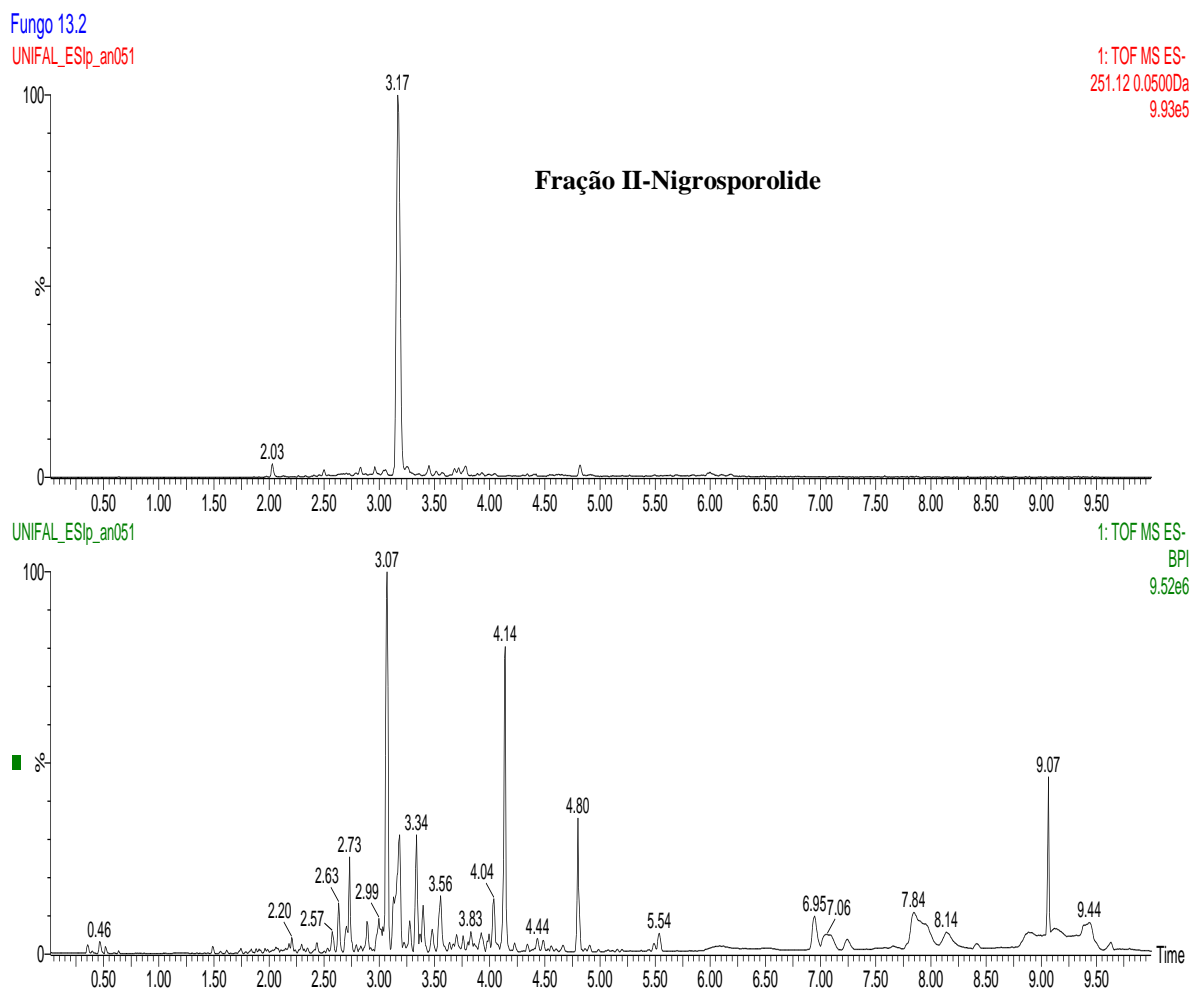
[M-H]	Compostos	FM	RT	hits	(continuação) Classes
249.1498	Dendocarbin A	C15H22O3	4.33	1	terpenóides
249.1500	Dendocarbin A	C15H22O3	6.01	1	terpenóides
249.1501	Dendocarbin A	C15H22O3	5.47	1	terpenóides
267.1601	Desuccinoylpunctaporonin C	C15H24O4	3.22	1	terpenóides
199.0969	Diplodialide D	C10H16O4	1.79	1	policetídeo
199.0972	Diplodialide D	C10H16O4	3.55	1	policetídeo
199.0975	Diplodialide D	C10H16O4	1.89	1	policetídeo
199.0975	Diplodialide D	C10H16O4	3.06	1	policetídeo
199.0977	Diplodialide D	C10H16O4	1.52	1	policetídeo
199.0978	Diplodialide D	C10H16O4	2.99	1	policetídeo
191.0706	harzialactone A	C11H12O3	2.87	1	terpenóides
191.0712	harzialactone A	C11H12O3	2.40	1	terpenóides
191.0713	harzialactone A	C11H12O3	3.76	1	terpenóides
191.0716	harzialactone A	C11H12O3	2.10	1	terpenóides
130.0860	Leucine	C6H13NO2	2.15	1	aminoácido
130.0870	Leucine	C6H13NO2	1.91	1	aminoácido
130.0874	Leucine	C6H13NO2	1.24	1	aminoácido
151.0398	methyl 4-hydroxybenzoate	C8H8O3	2.90	1	polifenol
151.0401	methyl 4-hydroxybenzoate	C8H8O3	2.12	1	polifenol
151.0402	methyl 4-hydroxybenzoate	C8H8O3	5.49	1	polifenol
151.0404	methyl 4-hydroxybenzoate	C8H8O3	1.65	1	polifenol
151.0404	methyl 4-hydroxybenzoate	C8H8O3	2.88	1	polifenol
227.2021	myristic acid	C14H28O2	8.64	1	ácido graxo
361.1666	nigrospín B	C20H26O6	3.99	1	policetídeo
253.1446	Nigrosporanene A, Nigrosporanene B	C14H22O4	3.06	2	policetídeo
237.1493	Nigrosporanene C, Nigrosporanene D	C14H22O3	4.75	2	policetídeo
167.0350	nigrosporapyrone D	C8H8O4	2.29	1	terpenóides
167.0351	nigrosporapyrone D	C8H8O4	1.91	1	terpenóides
185.0820	nigrosporione B/nigrosporione C	C9H14O4	2.15	2	policetídeo
251.1285	Nigrosporolideo	C14H20O4	2.02	1	terpenóides
251.1288	Nigrosporolideo	C14H20O4	4.91	1	terpenóides
251.1288	Nigrosporolideo	C14H20O4	4.30	1	terpenóides
251.1289	Nigrosporolideo	C14H20O4	3.17	1	terpenóides
449.1818	nigrospoxydon B	C23H30O9	3.88	1	terpenóides
255.2326	palmitic acid	C16H32O2	9.38	1	ácido graxo

Tabela 4 - Desrepliação de dados por comparação com banco de dados interno (BDI)

[M-H]	Compostos	FM	RT	hits	(conclusão) Classes
195.1022	pestalafuranone G	C11H16O3	2.57	1	terpenóides
195.1027	pestalafuranone G	C11H16O3	3.65	1	terpenóides
135.0448	Phenylacetic acid	C8H8O2	1.94	1	terpenóides
135.0450	Phenylacetic acid	C8H8O2	3.76	1	terpenóides
135.0451	Phenylacetic acid	C8H8O2	3.51	1	terpenóides
135.0451	Phenylacetic acid	C8H8O2	1.89	1	terpenóides
135.0452	Phenylacetic acid	C8H8O2	3.16	1	terpenóides
135.0452	Phenylacetic acid	C8H8O2	2.26	1	terpenóides
316.1557	solanapyrone N	C18H23NO4	3.83	1	terpenóides
283.2641	stearic acid	C18H36O2	9.14	1	ácido graxo
117.0180	Succinic acid	C4H6O4	9.38	1	ácido graxo
117.0194	Succinic acid	C4H6O4	1.00	1	ácido graxo
137.0606	Tirosol	C8H10O2	2.90	1	fenil propanóide
243.0619	Uridine	C9H12N2O6	0.63	1	nucleosídeo

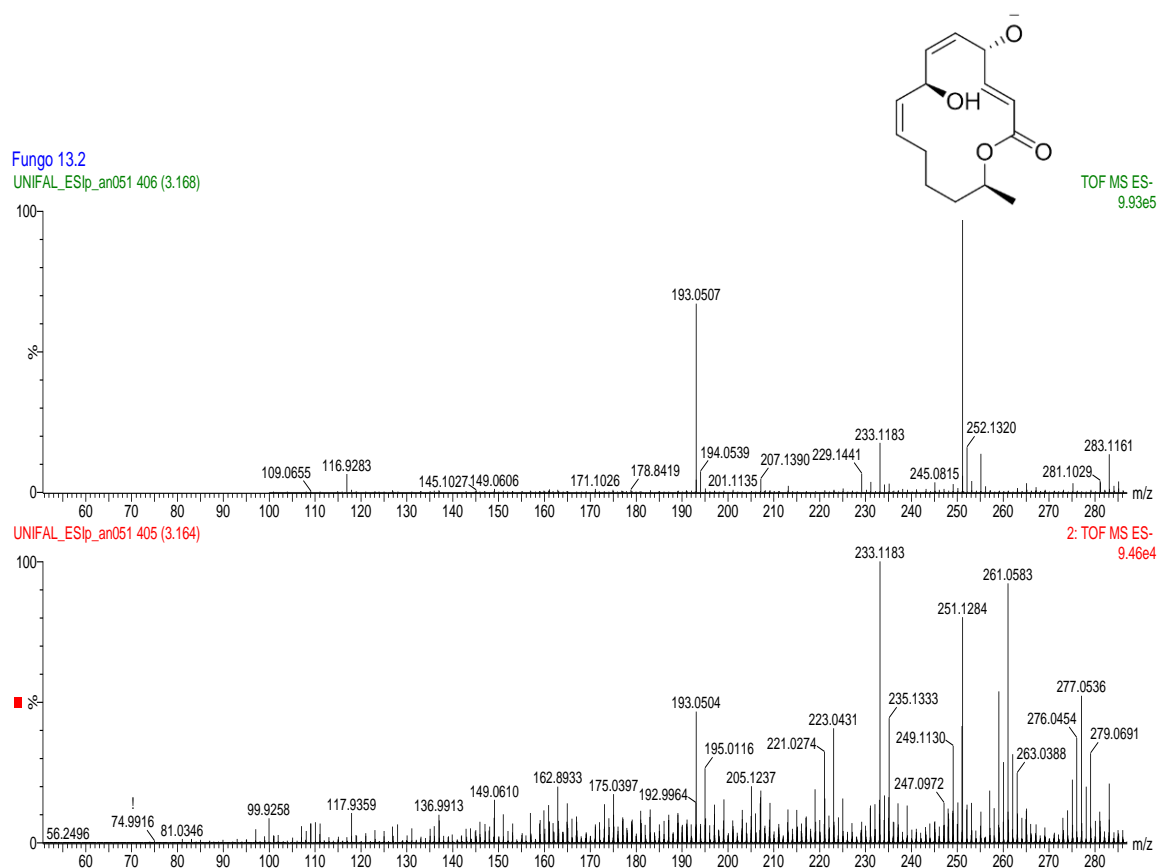
FONTE: Do autor

Figura 13 - Cromatograma UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS fração II, primeiro composto a ser desreplicado no tempo de retenção de 3.17 min. Método de eluição gradiente com fluxo de 0.5 mL / min e tempo de corrida 10 min. O gradiente de solventes utilizados foi de 1% ACN-99% H₂O, em 0.1 min 85% H₂O-15% ACN, em 7.5 min 20% H₂O-80% ACN, em 8.5 min 1% H₂O e 99% ACN, em 8.6 min 99% H₂O 1% ACN e até 10 min com 99% H₂O 1% ACN.



FONTE: Do autor

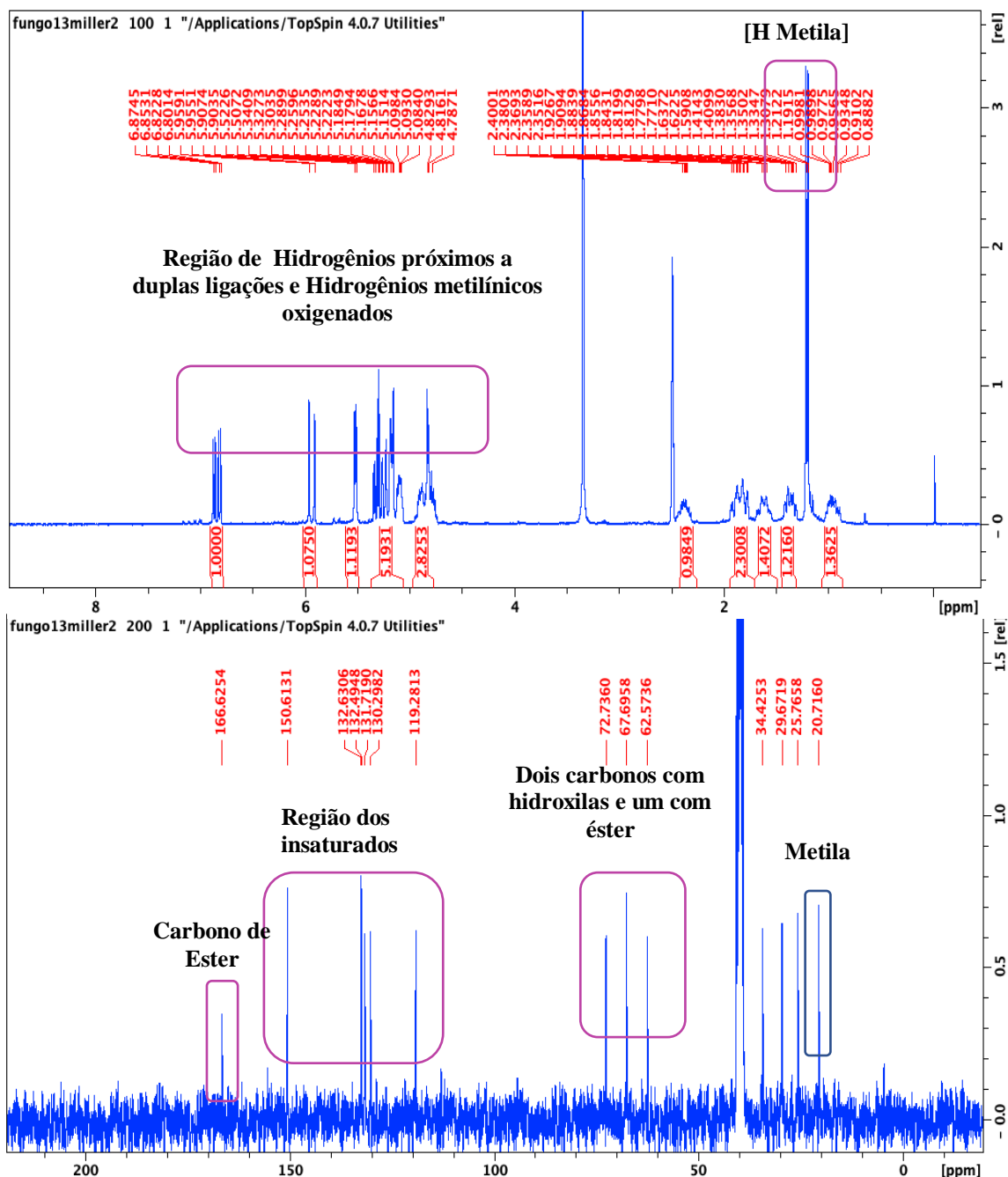
Figura 14 - Espectro de massas fração II UPLC-ESI-QTOF-MS1/MS2, do composto isolado nigrosporolide, com tempo de retenção de 4.87 min, íon precursor de m/z 251.1289, fórmula molecular $C_{14}H_{20}O_4$ e valor calculado m/z erro= 0.3 ppm.



FONTE: Do autor

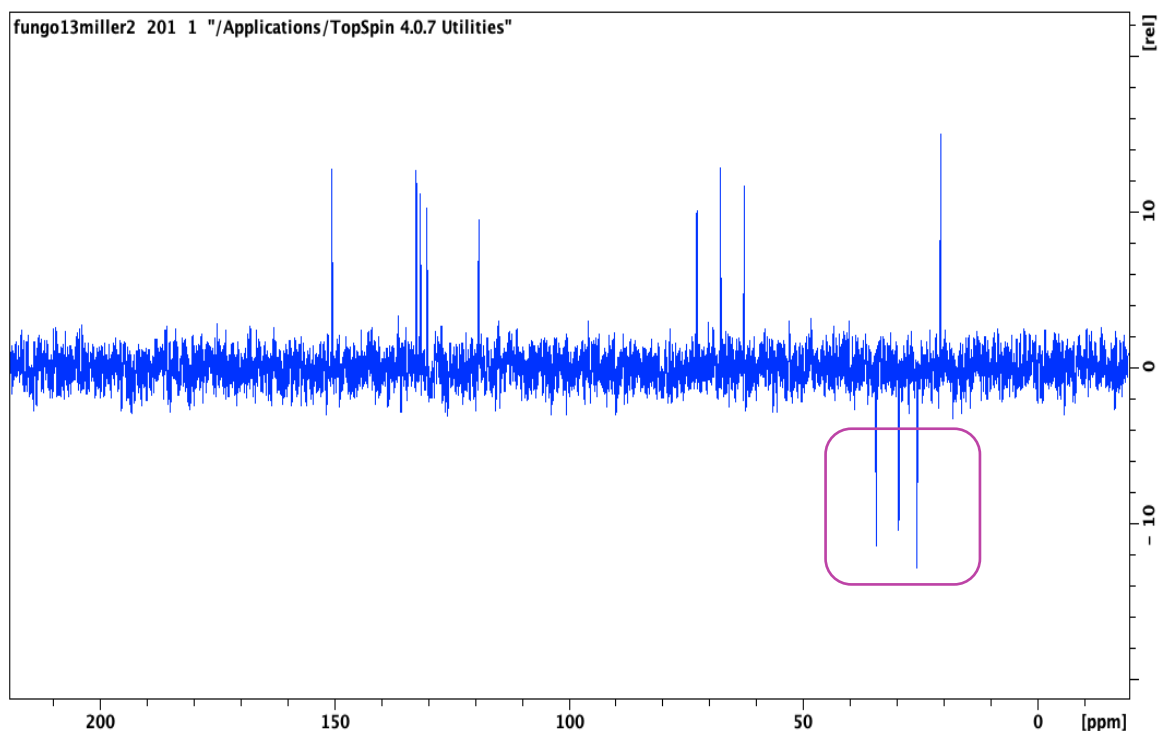
Os espectros de RMN de 1H e ^{13}C (Figs. 15 e 16) mostraram um sinal de carbonila de éster em δ_C 166,6 (C-1), sinais de uma ligação dupla α , β -insaturada em δ_C 150,6 (C-3), 119,2 (C-2) e em δ_H 6,83 (dd; 6,6 e 15,0 Hz; H-3), 5,90 (dd; 1,3 e 15,0 Hz; H-2), três grupos metínicos oxigenados em δ_C 72,7 (C-13), 66,7 (C-4), 62,5 (C-7), e em δ_H 5,08 (m, H-13), 4,88(m, H-4) e 4,77 (m, H-7), e um grupo metila em δ_C 20,7 (C-14) e δ_H 1,20 (d; 6,3; 3H- 14). Foi possível também identificar mais duas ligações duplas evidenciadas pelos carbonos em δ_C 132,6 (C-5), 132,4 (C-7), 131,7 (C-8), 130,2 (C-6). Além disso também foi observado carbonos de três grupos metilênicos alifáticos em δ_C 34,4 (C-12), 29,6 (C-11), 25,7 (C-10), que foram confirmados pelo DEPT135 (Figura.16). As comparações dos dados obtidos por técnicas espectroscópicas e espectrométricas com dados disponíveis na literatura permitiram confirmar a identificação do composto como o macrolídeo nigrosporolideo (HARWOOD; CUTLER; JACYNO, 1995).

Figura 15 - Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C com sinal de carbonila de éster em δ_{C} 166,6 (C-1), sinais de uma ligação dupla α , β -insaturada em δ_{C} 150,6 (C-3), 119,2 (C-2) e em δ_{H} 6,83 (dd; 6,6 e 15,0 Hz; H-3), 5,90 (dd; 1,3 e 15,0 Hz; H-2), três grupos metilínicos metilínicos oxigenados em δ_{C} 72,7 (C-13), 66,7 (C-4), 62,5 (C-7), e em δ_{H} 5,08 (m, H-13), 4,88(m, H-4) e 4,77 (m, H-7), e um grupo metila em δ_{C} 20,7 (C-14) e δ_{H} 1,20 (d; 6,3; 3H- 14). Foi possível também identificar mais duas ligações duplas evidenciadas pelos carbonos em δ_{C} 132,6 (C-5), 132,4 (C-7), 131,7 (C-8), 130,2 (C-6).



FONTE: Do autor

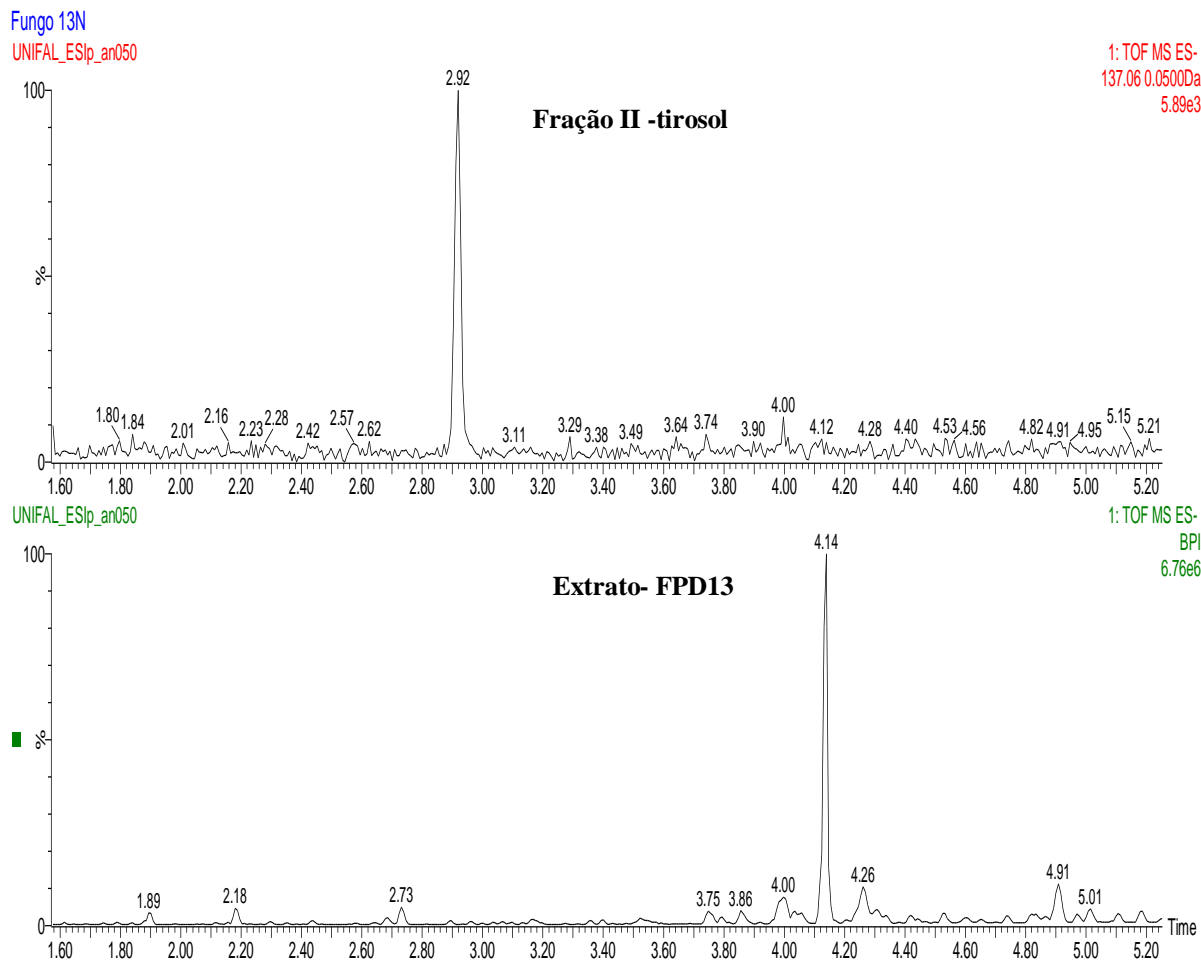
Figura 16 - Espectros de RMN de ^{13}C DEPT135 mostrando a presença de carbonos de três grupos metilênicos alifáticos em δ_{C} 34,4 (C-12), 29,6 (C-11), 25,7 (C-10).



FONTE: Do autor

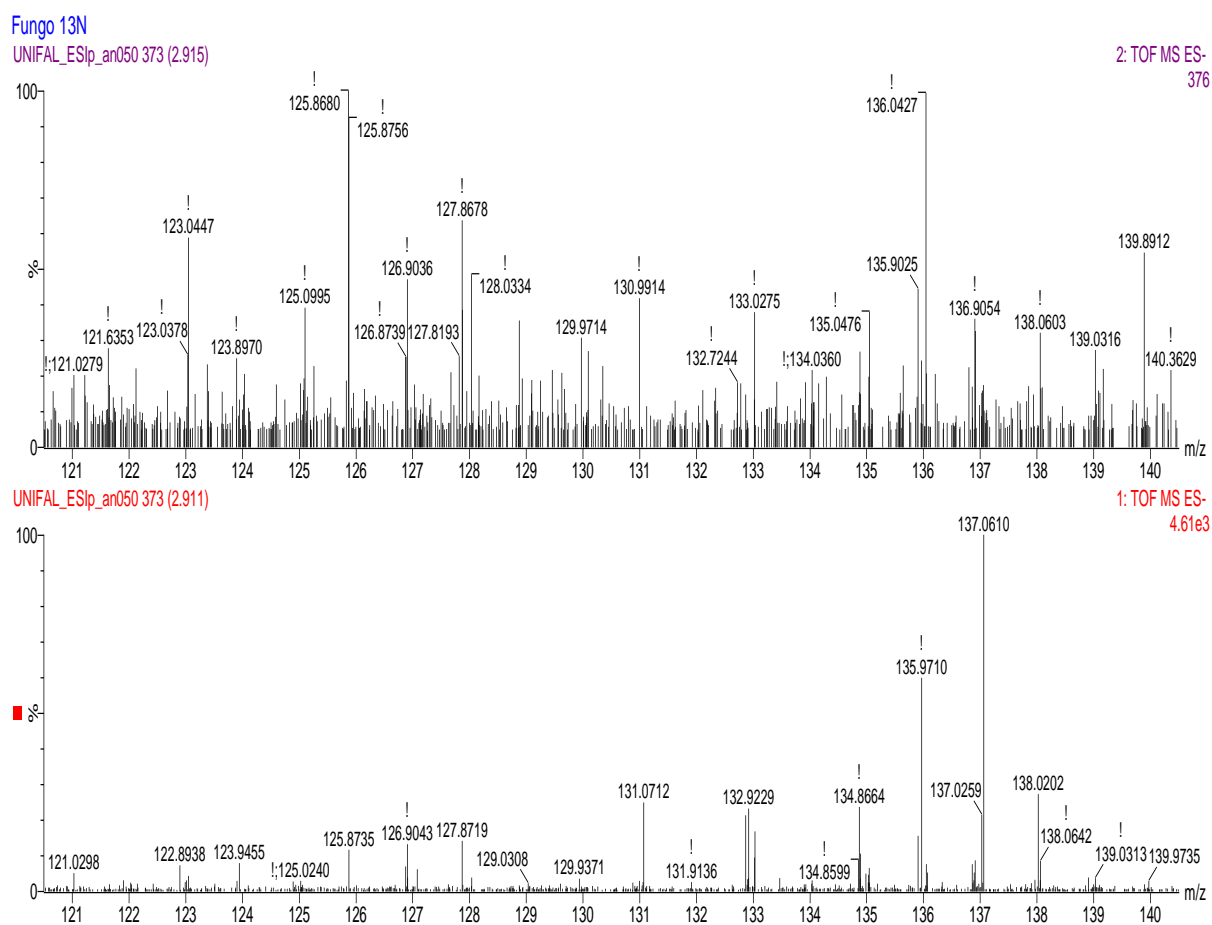
Através do cromatograma UPLC-ESI-QTOF-MS/MS do extrato FPD13/Fração II podemos observar no tempo de retenção de 2.92 min, o pico referente ao segundo composto isolado tirosol (**Figura. 17**). Para a caracterização utilizou-se dos dados obtidos em espectro de massas MS1/MS2 (**Figura.18**) e de RMN (**Figura. 19 e Tabela. 5**). O íon precursor de m/z 137.0610 e fórmula molecular $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$ (erro $m/z = 0.3$ ppm) foram comparados com dados da literatura vigente, sendo o composto caracterizado como tirosol (**Figura. 24**). O mesmo composto em outros estudos, já havia sido isolado de outras espécies do gênero *Nigrospora sp.* apresentando moderada atividade antibacteriana (TRISUWAN *et al.*, 2009). Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C auxiliaram na etapa de identificação do composto isolado, pois através dos espectros obtidos, os dados foram comparados com outros estudos (GUIMARÃES *et al.*, 2009), auxiliando na caracterização do composto.

Figura 17 - Cromatograma UPLC-ESI-QTOF-MS/MS do extrato FPD13/Fração II, o composto observado no tempo de retenção de 2.92 min foi caracterizado e isolado. Método de eluição gradiente com fluxo de 0,5 mL / min e tempo de corrida 10 min. O gradiente de solventes utilizados foi de 1% ACN-99% H₂O, em 0,1 min 85% H₂O-15% ACN, em 7,5 min 20% H₂O-80% ACN, em 8,5 min 1% H₂O e 99% ACN, em 8,6 min 99% H₂O 1% ACN e até 10 min com 99% H₂O 1% ACN.



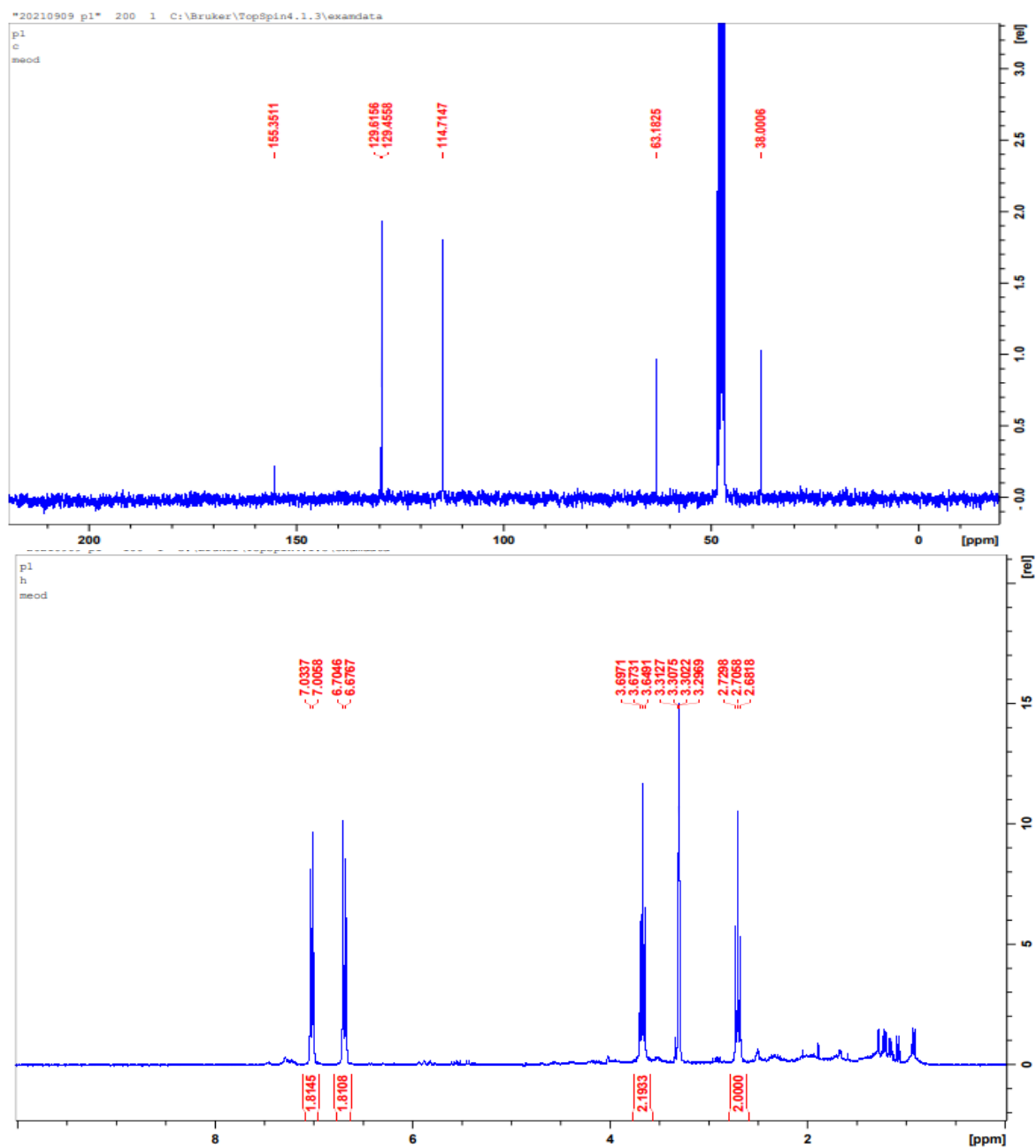
FONTE: Do autor

Figura 18 - Espectro de massas UPLC-ESI-QTOF-MS1/MS2, FPD13/fração II do composto isolado e caracterizado tirosol, com tempo de retenção de 2.92 min, íon precursor de m/z 137.0610, com respectivos fragmentos, fórmula molecular $C_8H_{10}O_2$ e valor calculado m/z erro= 0



FONTE: Do autor

Figura 19 - Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto caracterizado como tirosol com sinal em δ_{C} 63,2 (C-1), δ_{C} 129,6 (C-3), δ_{C} 38,0 (C-2) em δ_{H} 3,67 t e 7,2 Hz; H-1), δ_{H} 2,72 t e 7,036 (8,5 Hz; H-4-8), δ_{C} 114,7 e em δ_{H} 6.68 d (8.5 Hz).



FONTE: Do autor

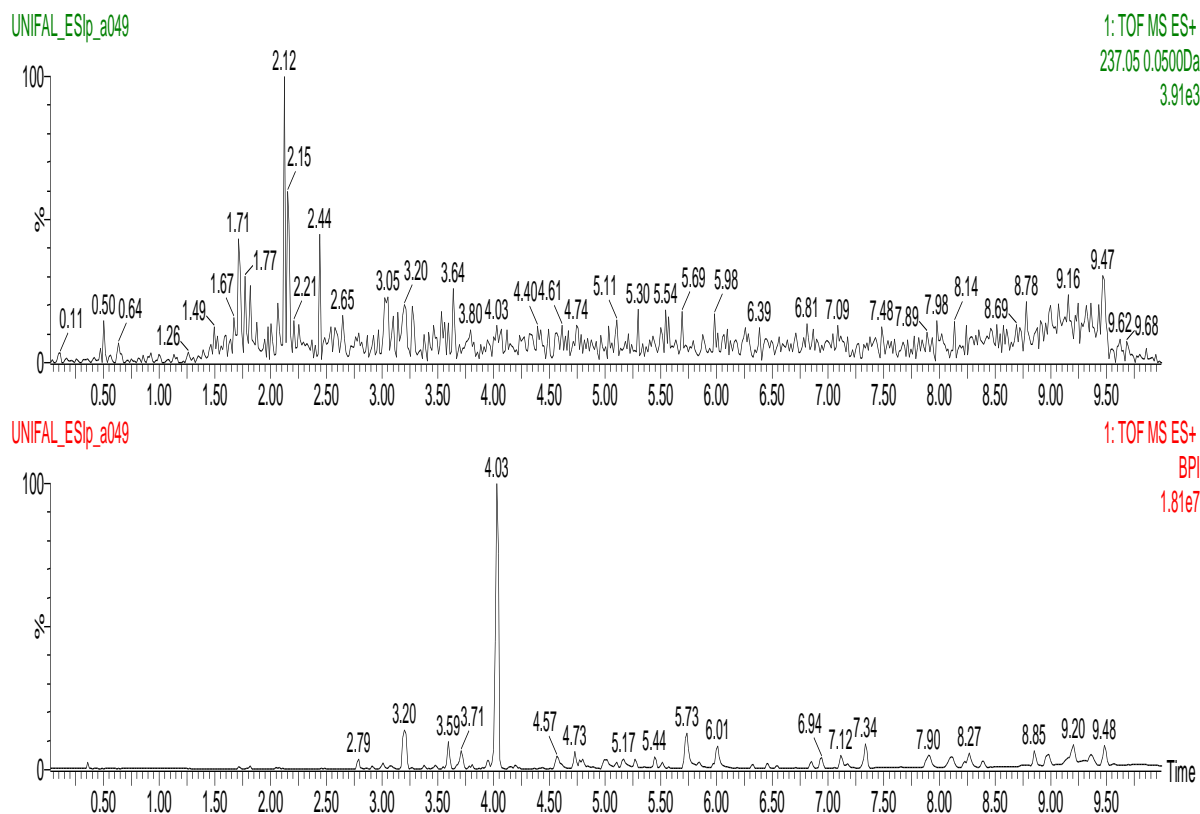
Tabela 5 - Dados de RMN ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do tirosol em DMSO.

Nº	δ_{C}	δ_{H}
1	63.2	3.67 t (7.2 Hz)
2	38.0	2.72 t (7.2 Hz)
3	129.6	-
4 e 8	129.4	7.036 d (8.5 Hz)
5 e 7	114.7	6.68 d (8.5 H z)
6	155.3	-

FONTE: Do autor

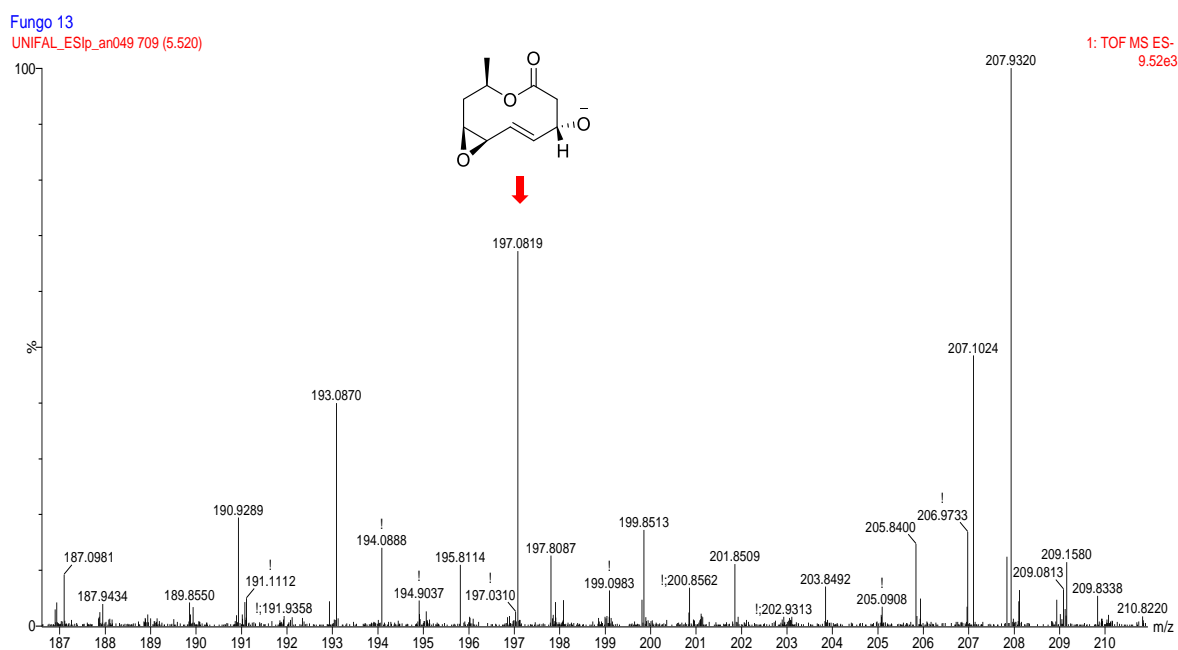
O composto decarestrictina A (**Figura 24**) foi o ultimo composto isolado e caracterizado da fração II (50:50 MeOH/H₂O) A revisão da literatura mostra que o composto decarestrictina A, já havia sido encontrada em outros gêneros de fungos endofíticos em plantas do território brasileiro (GRABLEY *et al.*, 1992), sendo relatado no gênero *Nigrospora.zirmini* pela primeira vez neste estudo. Através do espectro de massas MS1/modo negativo (ESI), podemos observar no tempo de retenção de 5.52min, o íon precursor de m/z 197.0819 com fórmula molecular C₁₀H₁₄O₄ (erro m/z mDa = 0.3 ppm) (**Figura 22**). No espectro de massas MS1 modo positivo (ESI⁺) encontramos os íons adultos de sódio, potássio e água (**Figura.23**) Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C auxiliaram na etapa de identificação do composto isolado, pois através dos espectros obtidos (**Figura 24 e Tabela 6**), os dados foram comparados com a literatura (GRABLEY *et al.*, 1992), auxiliando na caracterização do composto.

Figura 20 - Cromatograma UPLC-ESI-QTOF-MS/MS Extrato FPD13 fração II, composto decarestrictina A referente ao pico no tempo de retenção de 2.15 min. Método de eluição gradiente com fluxo de 0,5 mL / min e tempo de corrida 10 min. O gradiente de solventes utilizados foi de 1% ACN-99% H₂O, em 0,1 min 85% H₂O-15% ACN, em 7,5 min 20% H₂O-80% ACN, em 8,5 min 1% H₂O e 99% ACN, em 8,6 min 99% H₂O 1% ACN e até 10 min com 99% H₂O 1% ACN.



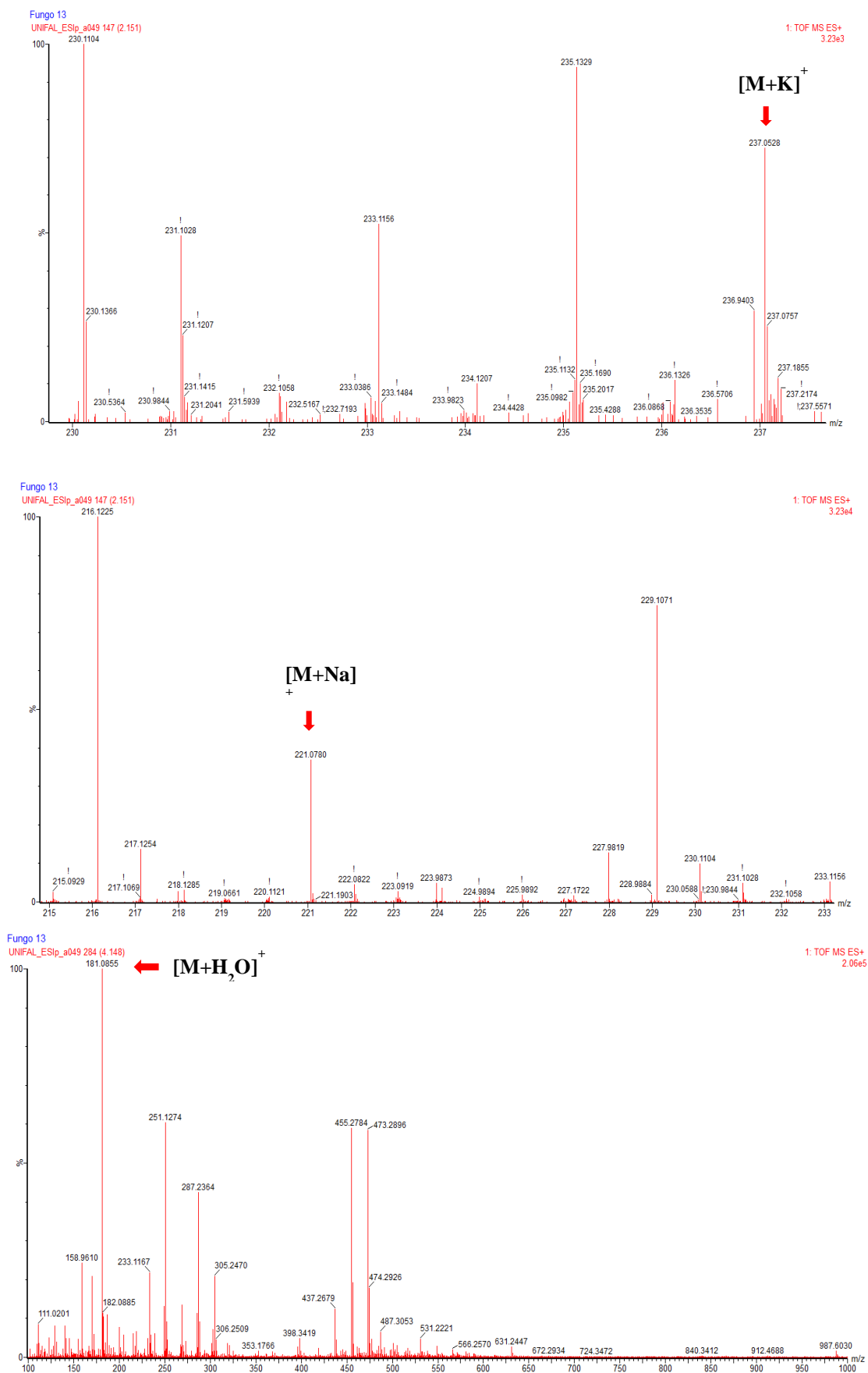
FONTE: Do autor

Figura 21 - Espectro de massas UPLC-ESI-QTOF-MS1/modo negativo, fração II íon precursor de m/z 197.0918 tempo de retenção de 5.52 min, fórmula molecular C₁₀H₁₄O₄ e valor calculado m/z erro= 0.3 ppm.



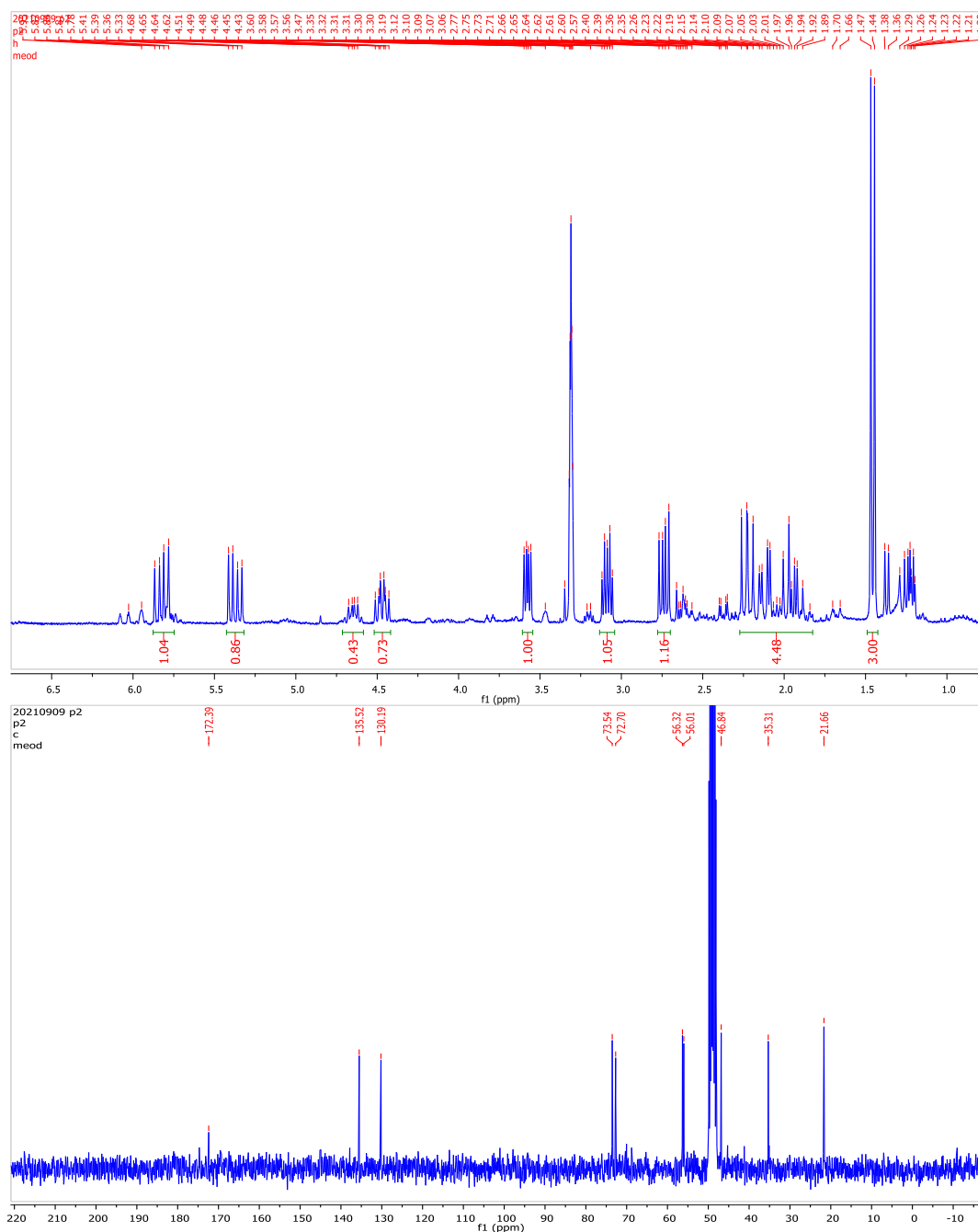
FONTE: Do autor

Figura 22 - Espectro de massas UPLC-ESI-QTOF-MS1/modo positivo, decarestrictina A, íons adultos $[M+K]^+$, $[M+Na]^+$ e $[M+H_2O]^+$ de m/z , 237.0528/ 221.0780/181.0855 respectivamente. Erro = 0,01ppm.



FONTE: Do autor

Figura 23 - Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto caracterizado como decarestrictina A com sinal em δ_{C} 170.9 (C-1), δ_{C} 45.6 (C-2), δ_{C} 72.1 (C-3), δ_{C} 130.2 (C-4), δ_{C} 71.3 (C-9), δ_{C} 20.2 (C-10) em δ_{H} 3.67 t e 7.2 Hz; H-1), δ_{H} 2.72 t e 7.036 (8.5 Hz; H- H-4-8), δ_{C} 114.7 e em δ_{H} 6.68 d (8.5 Hz).



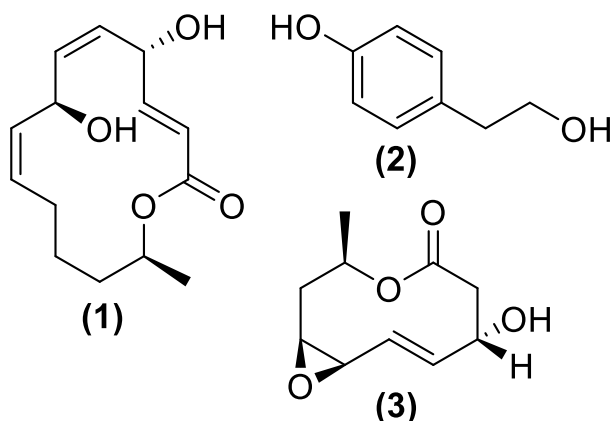
FONTE: Do autor

Tabela 6 - Dados de RMN ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto decarestrictina A em CDCl_3 .

N ^o	δ_{C}	δ_{H}
1	170.9	-
2	45.4	2.73 dd (12 e 10 Hz)
3	72.1	4.66 sexteto (7.0 Hz)
4	130.2	dd (16.0 e 9.0 Hz)
5	135.5	5.82 dd (16.0 e 9.0 H z)
6	54.9	3.00 dd (10.0 e 5.0 Hz)
7	54.6	57 dd (7. e 4 Hz)
8	33.9	2.12 dd(7.2 Hz)
9	71.3	46 ddd(9.2 e 6.0 Hz)
10	20.2	1.45 d(8.5 H z)

FONTE: Do autor

Figura 24 - Compostos isolados e identificados do extrato FPD13/ (1) Nigrosporolide, (2) Tirosol e Decarestrictina A (3)



FONTE: Do autor

4.5 ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.5.1 Atividade anti-inflamatória

O lipopolissacarídeo (LPS) é um indutor inflamatório que atua via receptor (TLR-4). Este receptor é uma proteína codificada que desencadeia a liberação de citocinas pró-inflamatórias e regulam a expressão gênica de vários fatores no processo inflamatório (WEI *et al.*, 2022). Podem ser obtidos de patógenos gram-negativos sendo usados para ativar as células sanguíneas do sistema imunológico e induzir a inflamação. Assim, o LPS foi escolhido para ativar a expressão de PGE₂ (DICKSON; LEHMANN, 2019). Neste ensaio, foi avaliada, a inibição de PGE₂ pela via de sinalização induzida por LPS medindo a concentração plasmática de PGE₂ inflamatório pelo método desenvolvido utilizando SPE-UPLC-MS/MS. O método utilizado para quantificação foi previamente validado pelo LFQM (ROSA *et al.*, 2021a). Este método é linear a partir do limite inferior de quantificação (LIQ) (6,25 ng.mL⁻¹) até o limite superior de quantificação (LSQ) (400 ng.mL⁻¹). A curva do coeficiente de regressão linear da curva de calibração foi = 0,0351x + 0,5637, onde **y** é a área relativa de PGE₂/(CAP e **x** é a concentração de PGE₂ medida em ng.mL⁻¹. As informações relacionadas a PGE₂ como quantificação e porcentagem de inibição são mostradas na **tabela 7**.

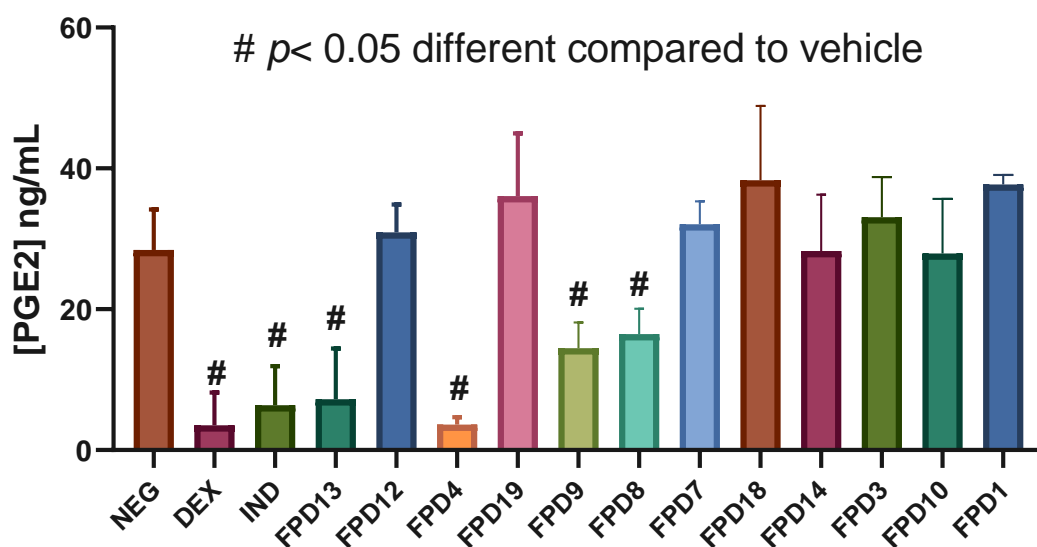
Tabela 7 - Porcentagem de inibição de PGE₂ do ensaio anti-inflamatório avaliada pelo método de quantificação SPE-UPLC-MS / MS-PGE₂

Amostra	[PGE₂ ng.mL⁻¹]	(% de inibição PGE₂)
FPD1	3.097795739	14.32%
FPD3	2.261227252	16.55%
FPD13	0.345258204	76.72%
FPD7	2.199021091	18.85%
FPD8	1.18149	56.4%
FPD9	1.0508885	61.2%
FPD10	1.927422478	28.9%
FPD12	2.123108951	21.64%
FPD4	0.630735495	87.25 %
FPD14	1.951056785	27.99%
FPD18	2.10451969	22.33%
FPD19	2.456474294	9.34%

FONTE: Do autor

4.5.2 Análise estatística da atividade anti-inflamatória

De acordo com testes de ANOVA one-way e teste de comparações múltiplas de Dunnett, dos 12 extratos de fungos avaliados, os extratos FPD4; FPD8; FPD9; FPD13; foram estatisticamente diferentes quando comparados com o controle negativo [#] (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Avaliação da atividade anti-inflamatória dos extratos de fungos endofíticos

FONTE: Do autor

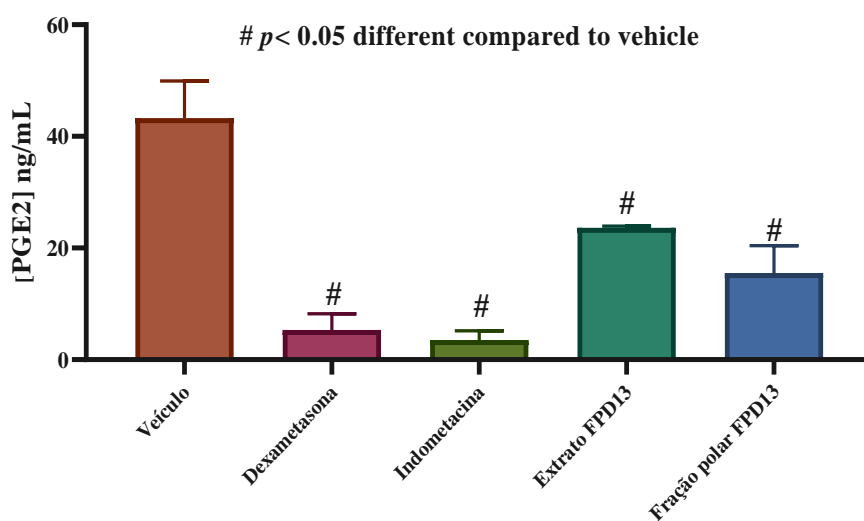
Tabela 8 - Teste de comparações múltiplas de Dunnett, dos 12 extratos de fungos avaliados

Teste Dunnett's	Dif.Média	95.00% CI	Signif.	Sumar.	P Val.
NEG vs. DEX	25.91	11.03 to 40.78	Yes	***	0.0002
NEG vs. IND	23.09	8.209 to 37.96	Yes	***	0.0008
NEG vs. FPD13	15.21	0.3364 to 30.09	Yes	*	0.0428
NEG vs. FPD12	-1.488	-16.36 to 13.39	No	ns	0.9996
NEG vs. FPD4	25.82	10.94 to 40.69	Yes	***	0.0002
NEG vs. FPD19	-6.608	-21.48 to 8.269	No	ns	0.8067
NEG vs. FPD9	14.98	0.1020 to 29.85	Yes	*	0.0477
NEG vs. FPD8	15.31	0.4296 to 30.18	Yes	*	0.0410
NEG vs. FPD7	-2.654	-17.53 to 12.22	No	Ns	0.9992
NEG vs. FPD18	-8.881	-23.76 to 5.995	No	Ns	0.4856
NEG vs. FPD14	1.154	-13.72 to 16.03	No	ns	0.9997
NEG vs. FPD3	-3.609	-18.49 to 11.27	No	ns	0.9955
NEG vs. FPD10	1.517	-13.36 to 16.39	No	ns	0.9996
NEG vs. FPD1	-8.283	-24.92 to 8.350	No	ns	0.6967

FONTE: Do autor

Os dados estatísticos mostram a razão PGE_2 / CAP obtida do espectrograma UPLC/MS. Os extratos que foram estatisticamente semelhantes ou superiores ao controle positivo são representados com *. Os extratos estatisticamente diferentes do controle negativo são representados com #. Os controles positivos DEX foram considerados estatisticamente semelhantes entre si e diferentes do controle negativo (NEG). Este resultado foi necessário para a confiança dos resultados de atividade anti-inflamatória. As amostras FPD13; FPD4 foram estatisticamente diferentes ao controle negativo demonstrando capacidade de inibição de PGE_2 de 76.72 e 87.25%. A fração II (50:50) Metanol/ H_2O obtida do extrato FPD13 foi novamente testada e compara ao extrato pela avaliação da atividade anti-inflamatória, demonstrando ser estatisticamente mais ativa que o extrato FPD13 (**Gráfico 2 e tabela 9**) Os dados mostram que aparentemente os compostos isolados desta fração possam ser possíveis agentes anti-inflamatórios.

Gráfico 2 - Avaliação da atividade anti-inflamatória do extrato FDP13 e fração (50:50) Metanol/ H_2O , os resultados foram analisados por ANOVA, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunnett's.



FONTE: Do autor

Tabela 9 - Teste de comparações múltiplas de Dunnett, do extrato FPD13 fração II Metanol/H₂O

Teste Dunnett's	Dif.Média	95.00% CI	Signif.	Sumar	P Val.
Veículo vs. Dexametasona	37.97	27.84 a 48.10	Yes	****	0.0002
Veículo vs. Indometacina	39.76	29.63 a 49.89	Yes	****	0.0002
Veículo vs. Extrato FPD13	19.65	8.319 a 30.97	Yes	**	0.0430
Veículo vs. Fração II	27.75	17.62 a 37.88	Yes	****	0.0007

FONTE: Do autor

4.5.3 Atividade antielmíntica

4.5.3.1 Teste de eclosão larval (TEO OU EHT)

O teste de inibição da eclosão larval (TEO) foi um teste preliminar, realizado em triplicatas. As análises realizadas com FPD13 mostraram que as concentrações de 4 e 2 mg/mL do extrato, inibiram a eclosão da primeira larva (L1) dos ovos de *Haemonchus contortus* em 100% de inibição, sem diferença estatística ($p < 0.05$) quando comparado com o controle positivo Thiabendazol a 0,1mg/mL. (Tabela 10)

Tabela 10- Media (\pm desvio Padrão) e intervalo de confiança (IC) 95% do teste de Inibição da eclosão larval do extrato FPD13 de *Nigrospora zirmmini*. a diferentes concentrações e com controles negativo (CN) e positivo.

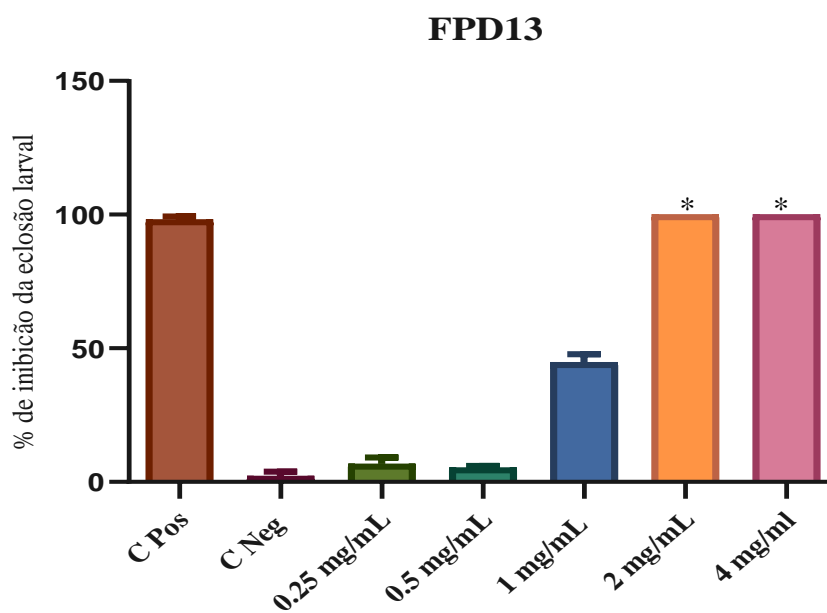
Concentração (mg/ml)	Media (DP)	IC 95%
4	100.0 (0.0) ^A	100.0 – 100.0
2	100.0 (0.0) ^A	100.0 – 100.0
1	44.79 (3.05) ^B	37.22 – 52.36
0,5	5.33 (0.73) ^C	3.53 – 7.14
0,25	6.77 (2.38) ^C	0.86 – 12.7
CN Tween 80 (1%)	2.24 (1.6) ^C	0.56 – 3.92
Thiabendazol 0,1	98.13 (1.19) ^A	96.65 – 99.61

FONTE: Do Autor

O **gráfico 3** descreve o efeito antihelmíntico *in vitro* promissor do extrato FPD13 sobre ovos de *H. contortus*. As concentrações de 0,5 e 0,25 mg/ml não

apresentaram diferença estatística ($p < 0.05$) entre elas. Novos testes são necessários para avaliar as concentrações intermediárias para a definição de uma curva de dose resposta, para calcular a IC_{50} (concentração de inibição da eclosão larval de 50%). Neste contexto, a aplicação de outros testes antihelmínticos *in vitro*, avaliando o efeito do extrato FPD13 em outros estágios evolutivos de *H. Contortus* (teste de desenvolvimento larval, teste de motilidade do nematoide adulto), devem ser realizados para confirmar a eficácia do efeito em todas as fases de crescimento do neomatoide. Assim sendo, o extrato FDP13 apresentou uma promissora atividade antielmintica e novos estudos devem ser realizados avaliando esta substancia como um forte candidato para o desenvolvimento de antihelmínticos naturais contra nematoides gastrointestinais.

Gráfico 3 - Efeito anti-helmíntico *in vitro* do extrato FPD13 sobre ovos de *H. contortus*. Nota: Os resultados foram analisados por ANOVA, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunnett. (*) Indica que há diferença significativa em relação ao controle positivo Tiabendazol (0,1mg/mL), onde $p \leq 0,05$.



FONTE: Do autor

4.6 QUIMIOMETRICA “DATASET *ASPERGILLUS*”

4.6.1 Modelos de aprendizado de máquina e QSAR

Seguindo a regra da parcimônia, foi possível construir um modelo utilizando o avaliador de subconjunto ranker que classificou sete descritores finais (**nN(CO)₂**; **R5e+**; **nArCHO**; **C-037**; **minssCH2**; **Gmin**; e **R5i+**). Os descritores selecionados foram utilizados para construir o modelo de RNAs com base no valor normalizado dos dados do descritor e nos valores de pIC₅₀. Camadas de nós de neurônios representam os modelos computacionais de dados de entrada e saída com a capacidade de aprender mecanismos não lineares. Nesses casos, métodos estatísticos não lineares são considerados padrões valiosos devido à sua alta capacidade preditiva (BALDIM *et al.*, 2017; CHAGAS-PAULA *et al.*, 2015b). O modelo de aprendizado de máquina de construção de RNA (corroborar com a relevância dos descritores moleculares selecionados para a atividade de previsão na via de inibição de NO dentro de nosso domínio de aplicabilidade. A tabela de dados original incluía uma matriz de dados de 60 instâncias com a entrada ID/train-test tipo de dados, nome do metabólito, classe química do NP, valores e tipo de IC₅₀/pIC₅₀ (**Tabela 11**).

Tabela 11 - Compostos Isolados do gênero *Aspergillus*, IC₅₀ e pIC₅₀ valores encontrados na literatura para NO células RAW167

(continua)				
ID/Tipo	Nome	NP Classe	pIC ₅₀	IC ₅₀
1-Train	(10 <i>E</i> ,12 <i>Z</i>)-carnemycin B	Aryl C-glicosídeos	4.85	14.00
2-Train	(3 <i>E</i> ,7 <i>E</i>)-4,8-dimethyl-undecane-3,7-diene-1,11-diol	Poliketídeos	4.73	18.60
3-Train	2,4-dihydroxy-6-(3 <i>E</i> ,5 <i>E</i>)-nona-3,5-dien-1-yl)-benzoic acid	Resorcinóis	5	9.90
4-Train	5-(hydroxymethyl)-2-furancarboxylic acid	Ácidos Orgânicos e Fenólicos	4.84	14.50
5-Train	5-[(3 <i>E</i> ,5 <i>E</i>)-3,5-nonadienyl]-1,3-benzenediol	Resorcinóis	5.22	6.00
6-Train	5-prenyldihydrorubrumazine A	Alcalóides	4.28	51.70

Tabela 11 - Compostos Isolados do gênero *Aspergillus* , IC₅₀ e pIC₅₀ valores encontrados na literatura para NO células RAW167

(continuação)				
Tipo	Nome	NP Classe	pIC ₅₀	IC ₅₀
7-Train	6,8,11- <i>tri</i> -O-methylaverantin	Terpenoides	5.25	5.61
8-Train	6-farnesyl-5,7-dihydroxy-4-methylphthalide	Butenolideos	5.14	7.30
9-Train	aspermeroterpeneB	Terpenoides	4.85	14.10
10-Train	asperimide C	Alkaloids	6.11	0.78
11-Train	asperimide D	Alkaloides	5.9	1.26
12-Train	aspermeroterpene A	Terpenoides	4.75	17.80
13-Train	aspermeroterpene C	Terpenoides	4.87	13.40
14-Train	Aspernigin	Alkaloides	4.25	56.00
15-Train	aspernolide B	Butenolides	4.17	67.13
16-Train	asperophiobolin J	Terpenoides	4.8	16.00
17-Train	asperteretal A	Butenolides	4.57	26.60
18-Train	asperteretal B	Butenolides	4.21	61.36
19-Train	asperversiamide G	Alkaloides	4.95	11.17
20-Train	asperversiamide B	Alkaloides	4.76	17.20
21-Train	asperversiamide F	Alkaloides	4.62	23.72
22-Train	astellolide G	Terpenoides	4.69	20.40
23-Train	Asterrelenin	Alkaloides	4.26	55.00
24-Train	butyrolactone III	Butenolides	4.69	20.60
25-Train	carnemycin A	Aryl C-glycosideos	4.82	15.00
26-Train	carnemycin B	Aryl C-glycosideos	4.85	14.00
27-Train	carnemycin C	Aryl C-glycosideos	4.72	19.00
28-Train	ergosterdiacid A	Esteroides	5.35	4.50
29-Train	ergosterdiacid B	Esteroides	5.44	3.61
30-Train	Fonsecin	Naftopiranonas	4.24	56.50
31-Train	guanxidone A	Poliketides	5.09	8.22

Tabela 11 - Compostos Isolados do gênero *Aspergillus* , IC₅₀ e pIC₅₀ valores encontrados na literatura para NO células RAW167

ID/Tipo	Nome	NP Classe	(conclusão)	
			pIC ₅₀	IC ₅₀
32-Train	gxsespeneA	Terpenoides	4.79	16.15
33-Train	lovastatin	Polyketides	4.76	17.45
34-Train	methyl-3,4,5trimethoxy	Polyketides	5.26	5.48
35-Train	nigerasperone C	Polyketides	4.71	19.60
36-Train	ochrace B	Terpenoides	4.83	14.6
37-Train	ochrace C	Terpenoides	4.74	18.30
38-Train	ophiobolin U	Terpenoides	5.02	9.60
39-Train	orlandin	other classes	4.38	41.30
40-Train	parasiticolide B	Terpenoides	4.74	18.03
41-Train	rubrofusarinB	Polyketides	4.07	84.40
42-Train	territrem A	Mycotoxin	4.53	29.30
43-Train	terrusnolide C	Butenolides	4.71	19.3
44-Train	TMC-256C1	Polyketides	5.68	2.10
45-Train	toluhydroquinone	Terpenoides	5.4	4.00
46-Train	versicolactone G	Butenolides	4.8	15.7

FONTE: Do autor

Os descritores moleculares foram calculados de acordo as características físico-químicas, geométricas e coordenadas espaciais das moléculas utilizadas no modelo anti-inflamatório (**Tabela 12**). As “contagens de grupos funcionais” são consideradas uma classe de descritores moleculares baseados na contagem de grupos funcionais químicos. O **nN(CO)2** e o **nArCHO** são descritores moleculares de contagem de grupos funcionais que descrevem o número de aldeídos aromáticos constituintes e de imidas (-tio), respectivamente (VCCLAB, Virtual Computational Chemistry Laboratory, <http://www.vcclab.org>, 2005). Os descritores **R5e⁺** / **R5i⁺**, são descritores GETAWAY que significam descritores de montagem de geometria, topologia e pesos atômicos, sendo derivados da matriz de alavancagem, que é deduzida pela centralização de todas

as coordenadas atômicas. Portanto, esses descritores podem contribuir para a forma ponderada do inibidor de NO pelas propriedades do conjunto de dados dos valores de pIC_{50} . (ARAUJO *et al.*, 2015). O descritor C-037 é um ACF “Atom-centred fragments” -fragmentos centrados em átomos, tem sido utilizados em outros estudos para construir um modelo anti-inflamatório e representar o número de heteroátomos ligados a um átomo de carbono sp^2 . (CRUZ-MONTEAGUDO; BORGES; CORDEIRO, 2008). O método ACF decompõe as moléculas em fragmentos estruturais constituídos por um átomo central e vizinhos de ligação. Um ACF é então definido através do tipo de átomo e do número e tipo de vizinhos de ligação e tipos de ligação associados. (KÜHNE; EBERT; SCHÜÜRMAN, 2009).

Além disso, entre todos os descritores, os topológicos constituem uma classe essencial que codifica os fragmentos estruturais cruciais que governam as propriedades, atividade ou dados de toxicidade das moléculas. Esses descritores são chamados de índices topológicos e suas formulações são baseadas na caracterização estrutural de substâncias químicas pela teoria dos grafos (ROY; MITRA, 2012). Atuam também em estudos QSAR (HALL; HALL, 2005). Em relação ao descritor 2D **minssCH₂** “Minimum atom-type *E*-State”: -CH₂”- representa o estado do tipo (*E*) Eletrotopológico átomo mínimo: -CH₂-. Em palavras simples, 'min' representa o valor mínimo do estado Eletrotopológico de um grupo específico, 'ss' representa as duas ligações simples desse grupo e 'CH₂' representa o grupo híbrido. (KHAN; ROY, 2021). O último descritor incluído **Gmin**, considera o átomo eletrotopológico tipo *E*-State, incluindo (Minimum *E*-State), este descritor define o valor mínimo de “*E*-State” para todos os átomos da molécula (SADGROVE *et al.*, 2020).

Tabela 12 - Descritores selecionados e suas definições.

Descritores	Tipo	Definições
nArCHO		Número de aldeídos (aromáticos)
	Contagem de Grupos Funcionais	
nN(CO) ₂		Número de imidas (-tio)
R5e+		Autocorrelação máxima R de lag 5
	Descritores “GETAWAY“	
R5i+		R Autocorrelação máxima de lag 5 /Ponderada pelo potencial de ionização
C-037	Fragmentos Centrados em Átomos	Ar-CH=X
minssCH ₂		Átomo-tipo <i>E</i> -Estado Mínimo: - CH ₂ -
	Átomo tipo Estado Eletrotopológico	
Gmin		Átomo-tipo <i>E</i> -Estado Mínimo

FONTE: Do autor

Para modelagem, os 60 metabólitos foram divididos aleatoriamente em um conjunto de treinamento de 46 compostos e um conjunto de teste de 14 metabólitos

(Tabela 13-14, Anexo IV). O modelo de RNA (Rede Neural Artificial) desenvolvido foi capaz de prever a atividade inflamatória de inibição do NO com valores de $R^2=0,65$, $Q^2=0,53$ e $P^2=0,56$ (Tabela 15, Anexo IV). Os valores do coeficiente de determinação (R^2), erro absoluto médio (MAE) e erro quadrático médio (RMSD) foram avaliados para medir a qualidade de ajuste do modelo. Da mesma forma, os valores do coeficiente de determinação para validação cruzada (Q^2), MAE e RMSD foram determinados para validação para avaliar a robustez, conhecida como qualidade do modelo de predição (SADGROVE *et al.*, 2020).

O embaralhamento “scramble” foi usado para detectar “overfitting” no modelo, misturando aleatoriamente dados de atividade experimental de todos os compostos. O conjunto de dados embaralhado resultante deve atingir um valor de coeficiente de determinação quadrado abaixo de 0,5 (ROY; MITRA, 2012; SADGROVE *et al.*, 2020). Isso é esperado para um bom modelo preditivo porque a mistura aleatória de valores de atividade biológica remove completamente a relação entre estrutura e atividade (SADGROVE *et al.*, 2020; VAIDYA *et al.*, 2015), o teste realizado de “scramble” apoiou a validação do modelo RNA indicando a ausência de overfitting (Tabela 10). Esses achados sugerem a existência de características químicas comuns entre as diferentes classes de compostos isolados do gênero *Aspergillus*, que são importantes para a atividade anti-inflamatória.

Tabela 13 - Cálculo experimental de pIC_{50} , valores para o conjunto de teste fornecido de 14 (Test) metabólitos de *Aspergillus* usando ANN.

(continua)				
ID Tipo	Nome	pIC_{50}	pIC_{50} (ANN)	Erro (ANN)
1-Test	aspergillusol A	4.38	4.743	0.363
2-Test	3-[(1'E,3'E)-1',3'-Heptadienyl]-6,8-dihydroxy-1',3'-dienylisocoumarin	4.76	5.24	0.48
3-Test	aspernolide D	4.09	4.789	0.699

Tabela 13 - Cálculo experimental de pIC_{50} , valores para o conjunto de teste fornecido de 14 (Test) metabólitos de *Aspergillus* usando ANN.

(conclusão)				
ID Tipo	Nome	pIC_{50}	pIC_{50} (ANN)	Erro (ANN)
4-Test	asperteretal C	4.77	4.851	0.081
5-Test	astellolide B	4.76	4.806	0.046
6-Test	5-prenyldihydrovariecolorin F	4.09	4.924	0.834
7-Test	carnemycin G	4.52	4.724	0.204
8-Test	ophiobolin Q	4.85	5.665	0.815
9-Test	nigerasperone A	5.13	4.822	-0.308
10-Test	pyranonigrin A	4.62	4.787	0.167
11-Test	butyrolactone II	4.35	4.725	0.375
12-Test	terrusnolide D	4.78	5.054	0.274
13-Test	violaceol II	4.14	4.847	0.707
14-Test	asperanin A	6.04	6.113	0.073

FONTE: Do autor

Tabela 14 - Cálculo experimental de pIC_{50} , valores para o conjunto de treino fornecido por 46 metabólitos (Train) de *Aspergillus* usando ANN.

(continua)				
ID Tipo	Nome	pIC_{50}	pIC_{50} (ANN)	Erro (ANN)
1-Train	(10 <i>E</i> ,12 <i>Z</i>)-carnemycin B	4.85	4.682	-0.168
2-Train	(3 <i>E</i> ,7 <i>E</i>)-4,8-dimethyl-undecane-3,7-diene-1,11-diol	4.73	4.938	0.208
3-Train	2,4-dihydroxy-6-(3 <i>E</i> ,5 <i>E</i>)-nona-3,5-dien-1-yl)-benzoicacid	5	5.193	0.193
4-Train	5-(hydroxymethyl)-2-furancarboxylic acid	4.84	5.059	0.219

Tabela 14 - Cálculo experimental de pIC_{50} , valores para o conjunto de treino fornecido por 46 metabólitos (Train) de *Aspergillus* usando ANN.

(continuação)

ID Tipo	Nome	pIC_{50}	pIC_{50} (ANN)	Erro (ANN)
5-Train	5-[(3 <i>E</i> ,5 <i>E</i>)-3,5-nonadienyl]- 1,3-benzenediol	5.22	5.423	0.203
6-Train	5-prenyldihydrorubrumazine A	4.28	4.92	0.64
7-Train	6,8,11-tri- <i>O</i> -methylaverantin	5.25	5.111	-0.139
8-Train	6-farnesyl-5,7-dihydroxy-4- methylphthalide	5.14	4.832	-0.308
9-Train	aspermeroterpeneB	4.85	4.788	-0.062
10-Train	asperimide C	6.11	6.188	0.078
11- Treino	asperimide D	5.9	5.847	-0.053
12-Train	aspermeroterpene A	4.75	4.814	0.064
13-Train	aspermeroterpene C	4.87	4.814	-0.056
14-Train	Aspernigin	4.25	4.667	0.417
15-Train	aspernolide B	4.17	4.791	0.621
16-Train	asperophiobolin J	4.8	4.839	0.039
17-Train	asperteretal A	4.57	4.795	0.225
18-Train	asperteretal B	4.21	4.609	0.399
19-Train	asperversiamide G	4.95	5.15	0.200
20-Train	asperversiamide B	4.76	4.903	0.143
21-Train	asperversiamide F	4.62	4.976	0.356
22-Train	astellolide G	4.69	4.788	0.098
23-Train	asterelenin	4.26	4.76	0.5
24-Train	butyrolactone III	4.69	4.77	0.08
25-Train	carnemycin A	4.82	4.683	-0.137
26-Train	carnemycin B	4.85	4.721	-0.129
27-Train	carnemycin C	4.72	4.723	0.003
28-Train	ergosterdiacid A	5.35	5.221	-0.129
29-Train	ergosterdiacid B	5.44	5.216	-0.224
30-Train	Fonsecin	4.24	4.558	0.318

Tabela 14 - Cálculo experimental de pIC_{50} , valores para o conjunto de treino fornecido por 46 metabólitos (Train) de *Aspergillus* usando ANN.

ID Tipo	Nome	pIC_{50}	pIC_{50} (ANN)	(conclusão)
				Erro (ANN)
31-Train	guanxidone A	5.09	4.861	-0.229
32-Train	gxsespeneA	4.79	4.994	0.204
33-Train	Lovastatin	4.76	4.827	0.067
34-Train	methyl-3,4,5 trimethoxy 2, 2	5.26	4.807	-0.453
35-Train	nigerasperone C	4.71	4.708	-0.002
36- Treino	ochracene B	4.83	4.803	-0.027
37- Treino	ochracene C	4.74	4.765	0.025
38- Treino	ophiobolin U	5.02	4.952	-0.068
39- Treino	orlandin	4.38	4.819	0.439
40- Treino	parasiticolide B	4.74	4.788	0.048
41- Treino	rubrofusarinB	4.07	4.878	0.808
42- Treino	territrem A	4.53	4.684	0.154
43- Treino	terrusnolide C	4.71	5.056	0.346
44- Treino	TMC-256C1	5.68	5.662	-0.018
45- Treino	toluhydroquinone	5.4	5.621	0.221
46-Treino	versicolactone G	4.8	4.721	-0.079

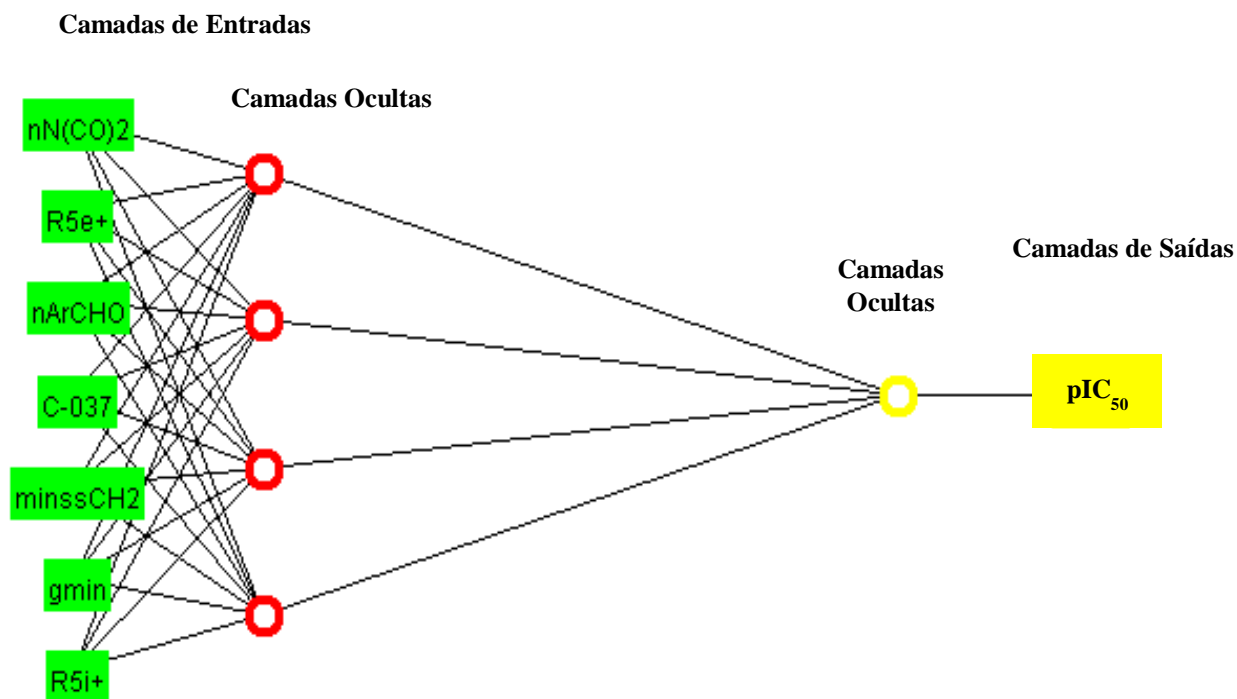
FONTE: Do autor

Tabela 15- Valores de R^2 , Q^2 , and P^2 para o modelo de predição ANN usando os descritores de características químicas de metabólitos isolados de *Aspergillus*.

Passos	Métricas	RMSE	MAE	Scramble	RMSE	MAE
					(scramble)	(scramble)
Train	0.65	0.276	0.208	0.293	0.385	0.273
CV	0.53	0.227	0.295	0.039	0.497	0.718
Test	0.56	0.387	0.471	0.00	0.495	0.352

FONTE: Do autor

Figura 25 - Rede Neural Artificial (ANN) Treinado no Weka



FONTE: Do autor

4.6.2 Domínio de aplicabilidade (DA)

O Padrão de domínio de aplicabilidade PDA é calculado da seguinte forma:

$$\text{PDA} = 'd' + Z\sigma$$

Onde, o cálculo de 'd' e σ é realizado da seguinte forma: Primeiro, a média das distâncias euclidianas (s) entre todos os pares de compostos de treinamento é calculada. Em seguida, é formulado o conjunto de distâncias que foram inferiores à média. 'd' e s são finalmente calculados como a média e o desvio padrão de todas as distâncias incluídas neste conjunto. Z é um valor de corte empírico e o valor padrão é 0,5.(MELAGRAKI *et al.*, 2010).O presente estudo apresentou no domínio de aplicabilidade valores de PDA acima dos padrões. Sendo encontrado um único outlier com valores inferiores de PDA(**Tabela. 16**). Com base nos dados obtidos podemos observar que o domínio de aplicabilidade para o modelo anti-inflamatório foi aprovado quando comparado aos valores padrões.

Tabela 16 - Domínio de Aplicabilidade com valores de APD, domínio e predição, calculados no software KNIME 4.6.1 com nodo “Domain-Similarity”

ID	Domínio	PDA	Predição
aspergillusol A	0.068	0.563	confiável
3-[(1'E,3'E)-1',3'-Heptadienyl]-6,8-dihydroxy-1',3'-dienylisocoumarin	0.247	0.563	confiável
aspernolide D	0.064	0.563	confiável
asperteretal C	0.161	0.563	confiável
astellolide B	0.137	0.563	confiável
5-prenyldihydrovariecolorin F	0.040	0.563	confiável
carnemycin G	0.091	0.563	confiável
ophiobolin Q	0.179	0.563	confiável
nigerasperone A	0.244	0.563	confiável
pyranonigrin A	0.237	0.563	confiável
butyrolactone II	0.049	0.563	confiável
terrusnolide D	0.101	0.563	confiável
violaceol II	0.056	0.563	confiável
asperanin A	1.463	0.463	não confiável

FONTE: Do autor

5 CONCLUSÃO

5.1 REVISÃO SISTEMÁTICA *ASPERGILLUS*

A revisão sistemática realizada no presente estudo, recapitulou o conhecimento atual sobre o potencial anti-inflamatório de metabólitos de espécies de fungos endofíticos do gênero *Aspergillus*, as diferentes classes de produtos naturais responsáveis por essa atividade e as principais vias envolvidas na resposta anti-inflamatórias. Além disso, o banco de dados criado por esta revisão sistemática incluiu informações químicas detalhadas dos metabólitos relatados e suas informações mais relevantes dos experimentos anti-inflamatórios. A análise dos dados coletados permitiu a observação de substâncias com atividade anti-inflamatória multialvos. Essas substâncias podem ser promissoras para novas etapas da descoberta de medicamentos anti-inflamatórios. Além disso, dentre essas substâncias com potencial anti-inflamatório multialvo, o estudo destaca substâncias com valores baixos de IC_{50} , relatados em estudos considerados de boa qualidade, o que aumenta a confiabilidade dos achados. No entanto, os estudos *in vivo* para metabólitos relatados mostraram-se escassos. Portanto, considerando as limitações discutidas, os dados químicos e farmacológicos apresentados na revisão sistemática realizada, podemos concluir que compostos isoçados de fungos endofíticos do gênero *Aspergillus sp.* são fortes candidatos a medicamentos anti-inflamatórios multialvos sendo de grande importância para o estudo e o desenvolvimento de novos fármacos.

5.2 REVISÃO CLÁSSICA *NIGROSPORA*

Nas últimas décadas, metabólitos secundários de fungos endofíticos têm se mostrado fontes promissoras na descoberta de novas substâncias bioativas. Esta revisão apresenta o progresso da pesquisa do fungo endofítico do gênero *Nigrospora.sp* relacionada a fitopatógenos, metabólitos secundários e biossíntese. Um total de 231 metabólitos secundários de cinco espécies conhecidas e 21 cepas fúngicas não identificadas de *Nigrospora* são resumidos a partir de 50 referências. Mais da metade

desses metabólitos são obtidos de cinco espécies conhecidas, incluindo *N. sphaerica*, *N. sacchari*, *N. oryzae*, *N. aurantiaca* e *N. camelliae-sinensis*. Entre todos os compostos relatados, 105 (representando 45%) e 123 (representando 54%) compostos foram derivados seletivamente de ambientes terrestres (principalmente plantas) e marinhos (principalmente animais marinhos, manguezais e fungos epífitos marinhos), respectivamente. Além disso, apenas três compostos foram obtidos de ambos os ambientes. Em resumo, esta revisão pode ser uma ferramenta valiosa para ajudar pesquisadores selecionar compostos interessantes para futuras pesquisas. Além disso, o gênero *Nigrospora sp.* destacou-se como uma boa fonte de diversidade metabólica e merece ser explorada.

5.3 FITOQUÍMICA E BIOATIVIDADE

O presente estudo é considerado o primeiro trabalho a relatar a bioatividade de compostos isolados do fungo endofítico do gênero *Nigrospora Zirmini*. Os compostos isolados (**Figura 25**) e caracterizados por técnicas espectroscópicas e espectrométricas, da fração II do extrato de *N. zirmini* apresentaram atividade anti-nflamatória referente a inibição da concentração de PGE₂ em ensaio *ex vivo*. No ensaio antiparasitário o extrato bruto de *N.zirmini* apresentou potente atividade contra neumatóides (99% de inibição do crescimento larval). Novos estudos devem ser realizados com os compostos isolados para a determinação dos principais candidatos a possíveis fármacos anti-inflamatórios e antiparasitários de origens naturais.

5.4 MODELO QSAR ANTI-INFLAMATÓRIO

O presente estudo é baseado em modelos QSAR para prever o efeito inibitório do NO em diferentes classes de produtos naturais produzidos por espécies de fungos do gênero *Aspergillus*. O modelo desenvolvido suporta uma descoberta mais rápida de novos metabólitos e extratos de fungos bioativos, melhorando a velocidade de identificação de protótipos moleculares para descoberta de novos fármacos. Os valores dos resultados obtidos de R², Q² e P² precisão, erro e uma dispersão aleatória satisfatória no domínio de aplicabilidade sugerem que o modelo é válido para prever novos inibidores de NO. Portanto, o modelo desenvolvido no trabalho pode ser útil para

auxiliar na rapidez para descoberta dos potenciais compostos de *Aspergillus*, pois o uso de um modelo de aprendizado de máquina válido é uma forma computacional confiável de prever a bioatividade, como neste caso, sua atividade anti-inflamatória do NO antes da aplicação biológica. Além disso, pode auxiliar na redução de custos desnecessários com scaffolds de metabólitos de baixo potencial, elevando assim a chance de sucesso no desenvolvimento de medicamentos.

5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho, consistiu de um estudo sustentável e ético de amostras de fungos endofíticos extraídas de *Poincianella pluviosa*, com uso de diferentes metodologias e ferramentas para avaliação da atividade anti-inflamatória e antiparasitária e do perfil químico dos extratos, a fim de se buscar espécies e/ou compostos com tais propriedades. Além disso, a criação de modelos QSAR anti-inflamatórios auxiliarão na velocidade de descoberta de novos fármacos com mecanismo de ação dual. Por fim, o trabalho destaca a importância dos estudos realizados com fungos endofíticos como fontes ricas em compostos bioativos, auxiliando na obtenção de agentes fitoterápicos e/ou fitomedicamentos, e inspirando a síntese de novos compostos.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AZEEM, A. M.; ABDEL-AZEEM, M. A.; KHALIL, W. F. **Endophytic Fungi as a New Source of Antirheumatoid Metabolites**. 2. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2019.
- ALEIXANDRE-TUDO, J. L. *et al.* Chemometrics in food science and technology: A bibliometric study. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems** [s. l.], v. 222, n. January, p. 104514, 2022.
- ALI, M.; TALHA, A.; BERKOUK, E. MADJID. New M5P model tree-based control for doubly fed induction generator in wind energy conversion system. **Wind Energy** [s. l.], v. 23, n. 9, p. 1831–1845, 2020.
- ARAÚJO, S. C. *et al.* ALK-5 inhibition: A molecular interpretation of the main physicochemical properties related to bioactive ligands. **Journal of the Brazilian Chemical Society** [s. l.], v. 26, n. 9, p. 1936–1946, 2015.
- BALDIM, J. L. *et al.* The Correlation between Chemical Structures and Antioxidant, Prooxidant, and Antitrypanosomatid Properties of Flavonoids. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity** [s. l.], v. 2017, 2017.
- BARMAN, A.; NATH, A.; THAKUR, D. Identification and characterization of fungi associated with blister blight lesions of tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze) isolated from Meghalaya, India. **Microbiological Research** [s. l.], v. 240, n. November 2019, p. 126561, 2020.
- BIBI, S. N. *et al.* Fungal endophytes associated with mangroves – Chemistry and biopharmaceutical potential. **South African Journal of Botany** [s. l.], v. 134, p. 187–212, 2020.
- BRAUN, G. H. *et al.* Evaluation of antileishmanial activity of harzialactone a isolated from the marine-derived fungus *Paecilomyces* sp. **Natural Product Research** [s. l.], v. 35, n. 10, p. 1644–1647, 2021.
- CHAGAS-PAULA, D. A. *et al.* Prediction of Anti-inflammatory Plants and Discovery of Their Biomarkers by Machine Learning Algorithms and Metabolomic Studies. **Planta Med** [s. l.], 2014.
- CHAGAS-PAULA, D. A. *et al.* Prediction of anti-inflammatory plants and discovery of their biomarkers by machine learning algorithms and metabolomic studies. **Planta Medica**, v. 81, n. 6, p. 450–458, 2015a.
- CHAGAS-PAULA, D. A. *et al.* Prediction of anti-inflammatory plants and discovery of their biomarkers by machine learning algorithms and metabolomic studies. **Planta Medica** [s. l.], v. 81, n. 6, p. 450–458, 2015b.
- COSTA-JÚNIOR, L. M. *et al.* Pharmacological characterization of geraniol in sheep and its potential use in the control of gastrointestinal nematodes a. v. 18, n. September, 2022.

COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature** [s. l.], v. 420, n. 6917, p. 860–867, 2002.

CRUZ-MONTEAGUDO, M.; BORGES, F.; CORDEIRO, M. N. D. S. Desirability-Based Multiobjective Optimization for Global QSAR Studies: Application to the Design of Novel NSAIDs with Improved Analgesic, Antiinflammatory, and Ulcerogenic Profile. **Journal of computational chemistry** [s. l.], v. 29, p. 2445–2459, 2008.

DA SILVA, R. G. *et al.* In silico pharmacological prediction and cytotoxicity of flavonoids glycosides identified by UPLC-DAD-ESI-MS/MS in extracts of *Humulus lupulus* leaves cultivated in Brazil. **Natural Product Research** [s. l.], v. 0, n. 0, p. 1–6, 2020.

DE ALCÂNTARA, B. G. V. *et al.* Confirmation of ethnopharmacological anti-inflammatory properties of *Ocotea odorifera* and determination of its main active compounds. **Journal of Ethnopharmacology** [s. l.], v. 264, n. September 2020, 2021.

DING, K. *et al.* Structure-based discovery of mPGES-1 inhibitors suitable for preclinical testing in wild-type mice as a new generation of anti-inflammatory drugs. **Scientific Reports** [s. l.], v. 8, n. 1, p. 1–9, 2018.

DOMINGOS, O. D. S. *et al.* Anti-inflammatory derivatives with dual mechanism of action from the metabolomic screening of *poincianella pluviosa*. **Molecules** [s. l.], v. 24, n. 23, 2019.

DOS SANTOS VARJÃO, M. T. *et al.* Leishmanicidal activity of fungal bioproducts: A systematic review. **Fungal Biology Reviews** [s. l.], n. xxxx, 2022.

DU, C. *et al.* Mediators of Inflammation: Inflammation in Cancer, Chronic Diseases, and Wound Healing. **Mediators of Inflammation** [s. l.], v. 2015, p. 2–4, 2015.

DU, X. *et al.* Polyketide derivatives from the sponge associated fungus *Aspergillus europaeus* with antioxidant and NO inhibitory activities. **Fitoterapia** [s. l.], v. 130, n. August, p. 190–197, 2018.

E. FRANK, M. A. HALL, AND I. H. W. E. Frank, M. A. Hall, and I. H. Witten, **The WEKA Work_bench. Online Appendix for Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques, Morgan Kaufmann, San Francisco, 4th edition, 2016.**

EL-HAWARY, S. S. *et al.* Natural product diversity from the endophytic fungi of the genus *Aspergillus*. **RSC Advances** [s. l.], v. 10, n. 37, p. 22058–22079, 2020.

FANG, W. *et al.* Asperpyrone-Type Bis-Naphtho- α -Pyrone with COX-2-Inhibitory Activities from Marine-Derived Fungus *Aspergillus Niger*. **Molecules** [s. l.], v. 21, n. 7, p. 4–11, 2016.

FERREIRA, M. S. *et al.* Systematic Review of Anti-inflammatory Agents from *Aspergillus* Species. **Revista Brasileira de Farmacognosia** [s. l.], v. 31, n. 5, p. 519–

530, 2021.

FIORUCCI, S. *et al.* Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy? **Biochemical Pharmacology** [s. l.], v. 62, n. 1, p. 1433–1438, 2001.

FLANDROY, L. *et al.* The impact of human activities and lifestyles on the interlinked microbiota and health of humans and of ecosystems. **Science of the Total Environment** [s. l.], v. 627, p. 1018–1038, 2018.

GANDHI, Y. *et al.* Advances in anti-inflammatory medicinal plants and phytochemicals in the management of arthritis: A comprehensive review. **Food Chemistry Advances** [s. l.], v. 1, n. June, p. 100085, 2022.

GAUTAM, V. S. *et al.* Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of an endophytic fungus *Nigrospora sphaerica* (EHL2), inhabiting the medicinal plant *Euphorbia hirta* (dudhi) L. **Archives of Microbiology** [s. l.], v. 204, n. 2, 2022.

GONÇALVES-SANTOS, E. *et al.* Sesquiterpene lactone potentiates the immunomodulatory, antiparasitic and cardioprotective effects on anti-*Trypanosoma cruzi* specific chemotherapy. **International Immunopharmacology** [s. l.], v. 77, n. October, p. 105961, 2019.

GRABLEY, S. *et al.* Secondary metabolites by chemical screening. 8f decarestrictines, a new family of inhibitors of cholesterol biosynthesis from *penicillium*: I. Strain description, fermentation, isolation and properties. **The Journal of Antibiotics** [s. l.], v. 45, n. 1, p. 56–65, 1992.

GU, B. BIN *et al.* Preussins with Inhibition of IL-6 Expression from *Aspergillus flocculosus* 16D-1, a Fungus Isolated from the Marine Sponge *Phakellia fusca*. **Journal of Natural Products** [s. l.], v. 81, n. 10, p. 2275–2281, 2018.

GUBIANI, J. R. *et al.* Biologically active eremophilane-type sesquiterpenes from *Camarops* sp., an endophytic fungus isolated from *Alibertia macrophylla*. **Journal of Natural Products** [s. l.], v. 77, n. 3, p. 668–672, 2014.

GUIMARÃES, D. O. *et al.* A Simple Method for the Quantitative Analysis of Tyrosol by HPLC in Liquid Czapek Cultures from Endophytic Fungi. **Journal of the Brazilian Chemical Society** [s. l.], v. 20, n. 1, p. 188–194, 2009.

GUPTA, S. *et al.* A critical review on exploiting the pharmaceutical potential of plant endophytic fungi. **Biotechnology Advances** [s. l.], v. 39, n. May, p. 107462, 2020.

HALL, L. H.; HALL, L. M. QSAR modeling based on structure-information for properties of interest in human health. **SAR and QSAR in Environmental Research** [s. l.], v. 16, n. 1–2, p. 13–41, 2005.

HARWOOD, J. .; CUTLER, H. .; JACYNO, J. . Nigrosporolide, A Plant Growth-Inhibiting Macrolide From The Mould *Nigrospora Sphaerica*. **Natural Product Letters** [s. l.], v. 6, n. 3, p. 181–185, 1995.

HAWKSWORTH, D. A new dawn for the naming of fungi: impacts of decisions made in Melbourne in July 2011 on the future publication and regulation of fungal names. **MycoKeys** [s. l.], v. 1, n. 2, p. 7–20, 2011.

HU, Y. *et al.* Nematicidal activity of chaetoglobosin a produced by *Chaetomium globosum* NK102 against *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** [s. l.], v. 61, n. 1, p. 41–46, 2013.

HUANG, X. *et al.* ScienceDirect *Aspergillus terreus* as an industrial filamentous fungus for pharmaceutical biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology** [s. l.], v. 69, p. 273–280, 2021.

HWANG, D. *et al.* Toluhydroquinone from *Aspergillus sp.* suppress inflammatory mediators via nuclear factor- κ B and mitogen-activated protein kinases pathways in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 cells. **Journal of Pharmacy and Pharmacology** [s. l.], v. 67, n. 9, p. 1297–1305, 2015.

J. J. P. STEWART. **J. J. P. Stewart, MOPAC 2016, Stewart Computacional Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, 2016.**

KATCHBORIAN-NETO, A. *et al.* Neuroprotective potential of Ayahuasca and untargeted metabolomics analyses: applicability to Parkinson's disease. **Journal of Ethnopharmacology** [s. l.], v. 255, n. March, p. 112743, 2020.

KEMSLEY, E. K.; TAPP, H. S. OPLS filtered data can be obtained directly from non-orthogonalized PLS1. **Journal of Chemometrics** [s. l.], v. 23, n. 5, p. 263–264, 2009.

KHAN, P. M.; ROY, K. QSPR modelling for investigation of different properties of aminoglycoside-derived polymers using 2D descriptors. **SAR and QSAR in Environmental Research** [s. l.], v. 32, n. 7, p. 595–614, 2021.

KIM, D. C. *et al.* Dihydroisocoumarin Derivatives from Marine-Derived Fungal Isolates and Their Anti-inflammatory Effects in Lipopolysaccharide-Induced BV2 Microglia. **Journal of Natural Products** [s. l.], v. 78, n. 12, p. 2948–2955, 2015.

KIM, D. C. *et al.* Anti-inflammatory and cytoprotective effects of TMC-256C1 from marine-derived fungus *Aspergillus sp.* SF-6354 via up-regulation of heme oxygenase-1 in murine hippocampal and microglial cell lines. **International Journal of Molecular Sciences** [s. l.], v. 17, n. 4, p. 1–18, 2016.

KIM, K. W. *et al.* **Anti-neuroinflammatory effect of 6,8,1'-tri-O-methylaverantin, a metabolite from a marine-derived fungal strain *Aspergillus sp.*, via upregulation of heme oxygenase-1 in lipopolysaccharide-activated microglia.** [s.l.] Elsevier Ltd, 2018. v. 113

KOBAYASHI, Y.; YOSHIDA, K. Development of QSAR models for prediction of fish bioconcentration factors using physicochemical properties and molecular descriptors with machine learning algorithms. **Ecological Informatics** [s.l.], v. 63, n. January, p. 101285, 2021.

KORNSAKULKARN, J. *et al.* Bioactive hydroanthraquinones from endophytic fungus *Nigrospora sp.* BCC 47789. **Phytochemistry Letters** [s.l.], v. 24, n. January, p. 46–50, 2018.

KUANG, Q. X. *et al.* Hydroanthraquinones from *Nigrospora sphaerica* and Their Anti-inflammatory Activity Uncovered by Transcriptome Analysis. **Journal of Natural Products** [s.l.], v. 85, n. 6, p. 1474–1485, 2022.

KÜHNE, R.; EBERT, R. U.; SCHÜÜRMAN, G. Chemical domain of QSAR models from atom-centered fragments. **Journal of Chemical Information and Modeling** [s.l.], v. 49, n. 12, p. 2660–2669, 2009.

KWON, J. *et al.* Chemical constituents isolated from Antarctic marine-derived *Aspergillus sp.* SF-5976 and their anti-inflammatory effects in LPS-stimulated RAW 264.7 and BV2 cells. **Tetrahedron** [s.l.], v. 73, n. 27–28, p. 3905–3912, 2017.

LANDSKRON, G. *et al.* Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. **Journal of Immunology Research** [s.l.], v. 2014, 2014.

LATGÉ, J. P. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis. **Clinical Microbiology Reviews** [s.l.], v. 12, n. 2, p. 310–350, 1999.

LEE, D. S. *et al.* Asperlin from the marine-derived fungus *Aspergillus sp.* SF-5044 exerts anti-inflammatory effects through heme oxygenase-1 expression in murine macrophages. **Journal of Pharmacological Sciences** [s.l.], v. 116, n. 3, p. 283–295, 2011.

LEUTOU, A. S. *et al.* New production of 5-bromotoluhydroquinone and 4-O-methyltoluhydroquinone from the marine-derived fungus *Dothideomycete sp.* **Journal of Microbiology and Biotechnology** [s.l.], v. 22, n. 1, p. 80–83, 2012.

LI, H. *et al.* Aspersiamides, Linearly Fused Prenylated Indole Alkaloids from the Marine-Derived Fungus *Aspergillus versicolor*. **Journal of Organic Chemistry** [s.l.], v. 83, n. 15, p. 8483–8492, 2018a.

LI, H. J. *et al.* Two new metabolites from the mangrove endophytic fungus no. 2524. **Journal of Asian Natural Products Research** [s.l.], v. 6, n. 3, p. 185–191, 2004.

LI, S. J. *et al.* Novel natural compounds from endophytic fungi with anticancer activity. **European Journal of Medicinal Chemistry** [s.l.], v. 156, p. 316–343, 2018b.

LIANG, Z. *et al.* An alkaloid and a steroid from the endophytic fungus *Aspergillus fumigatus*. **Molecules** [s.l.], v. 20, n. 1, p. 1424–1433, 2015.

LIAO, G. *et al.* Asperimides A–D, anti-inflammatory aromatic butenolides from a tropical endophytic fungus *Aspergillus terreus*. **Fitoterapia** [s.l.], v. 131, n. October, p. 50–54, 2018.

LIU, H.; PAPA, E.; GRAMATICA, P. QSAR prediction of estrogen activity for a large

set of diverse chemicals under the guidance of OECD principles. **Chemical Research in Toxicology** [s.l.], v. 19, n. 11, p. 1540–1548, 2006.

LIU, M. *et al.* Bioactive secondary metabolites from the marine-associated fungus *Aspergillus terreus*. **Bioorganic Chemistry** [s.l.], v. 80, n. May, p. 525–530, 2018.

LONG, W. *et al.* QSAR modeling of iNOS inhibitors based on a novel regression method: Multi-stage adaptive regression. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems** [s.l.], v. 128, p. 83–88, 2013.

LOUKAS, A.; MAIZELS, R. M.; HOTEZ, P. J. The yin and yang of human soil-transmitted helminth infections. **International Journal for Parasitology** [s.l.], v. 51, n. 13–14, p. 1243–1253, 2021.

MA, W. *et al.* Hypoglycemic natural products with in vivo activities and their mechanisms: a review. **Food Science and Human Wellness** [s.l.], v. 11, n. 5, p. 1087–1100, 2022.

MA, Y. *et al.* Integrated proteomics and metabolomics analysis of tea leaves fermented by *Aspergillus niger*, *Aspergillus tamaris* and *Aspergillus fumigatus*. **Food Chemistry** [s.l.], v. 334, n. June 2020, p. 127560, 2021.

MANDAL, N. *et al.* Assessment of the antioxidant and reactive oxygen species scavenging activity of methanolic extract of *caesalpinia crista* leaf. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 2011.

MARINHO, A. M. DO R. *et al.* Biologically Active Polyketides Produced by *Penicillium janthinellum* Isolated as an Endophytic Fungus from Fruits of *Melia azedarach*. **Journal of the Brazilian Chemical Society** [s.l.], v. 16, n. 2, p. 280–283, 2005.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. **Cell** [s.l.], v. 140, n. 6, p. 771–776, 2010.

MELAGRAKI, G. *et al.* In silico exploration for identifying structure-activity relationship of MEK inhibition and oral bioavailability for isothiazole derivatives. **Chemical Biology and Drug Design** [s.l.], v. 76, n. 5, p. 397–406, 2010.

METTWALLY, W. S. A. *et al.* *Calotropis procera* (Aiton) seeds fixed oil: Physicochemical analysis, GC–MS profiling and evaluation of its in-vivo anti-inflammatory and in-vitro antiparasitic activities. **Arabian Journal of Chemistry** [s.l.], v. 15, n. 9, p. 104085, 2022.

METWALY, A. M. *et al.* Nigrosphaerin A a new isochromene derivative from the endophytic fungus *Nigrospora sphaerica*. **Phytochemistry Letters** [s.l.], v. 7, n. 1, p. 1–5, 2014.

MOHER, D. *et al.* Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (prisma-p) 2015 statement. **Systematic Reviews** [s.l.], v. 4, n. 1, p. 2–9, 2015.

MOSTAFA, O.; AL-SHEHRI, M.; MOUSTAFA, M. Promising antiparasitic agents from marine sponges. **Saudi Journal of Biological Sciences** [s.l.], v. 29, n. 1, p. 217–227, 2022.

NIEDBALA, W. *et al.* Nitric oxide enhances Th9 cell differentiation and airway inflammation. **Nature Communications** [s.l.], v. 5, n. May, p. 1–13, 2014.

NIGUSSIE, D. *et al.* Systematic review of Ethiopian medicinal plants used for their anti-inflammatory and wound healing activities. **Journal of Ethnopharmacology** [s.l.], v. 276, p. 114179, 2021.

NORILER, S. A. *et al.* Bioprospecting and structure of fungal endophyte communities found in the Brazilian biomes, pantanal, and Cerrado. **Frontiers in Microbiology** [s.l.], v. 9, n. JUL, p. 1–14, 2018.

O'CONNOR, S. E. Manipulating Biosynthesis of Plant Natural Products. **Comprehensive Natural Products III** [s.l.], p. 268–275, 2020.

OLA, A. R. B. *et al.* Bioactive secondary metabolites from the mangrove endophytic fungi *Nigrospora oryzae*. **Indonesian Journal of Chemistry** [s.l.], v. 21, n. 4, p. 1016–1022, 2021.

OLIVEIRA, T. B. *et al.* Study of chromatographic retention of natural terpenoids by chemoinformatic tools. **Journal of Chemical Information and Modeling** [s.l.], v. 55, n. 1, p. 26–38, 2015.

PATIL, R. H.; PATIL, M. P.; MAHESHWARI, V. L. Bioactive Secondary Metabolites From Endophytic Fungi: A Review of Biotechnological Production and Their Potential Applications. **Studies in Natural Products Chemistry** [s.l.], v. 49, p. 189–205, 2016.

PINGAEW, R. *et al.* Anticancer activity and QSAR study of sulfur-containing thiourea and sulfonamide derivatives. **Heliyon** [s.l.], v. 8, n. 8, p. e10067, 2022.

PURATCHIKODY, A.; DOBLE, M. Antinociceptive and antiinflammatory activities and QSAR studies on 2-substituted-4,5-diphenyl-1H-imidazoles. **Bioorganic and Medicinal Chemistry** [s.l.], v. 15, n. 2, p. 1083–1090, 2007.

PUZYN, T.; LESZCZYŃSKI, J.; CRONIN, M. **Recent Advances in QSAR Studies: Methods and Applications**. [s.l.: s.n.].

RAI, M. *et al.* Fungal growth promotor endophytes: A pragmatic approach towards sustainable food and agriculture. **Symbiosis** [s.l.], v. 62, n. 2, p. 63–79, 2014.

RAMAN, K. *et al.* Role of natural products towards the SARS-CoV-2: A critical review. **Annals of Medicine and Surgery** [s.l.], v. 80, n. June, p. 104062, 2022.

RHEN, T.; CIDLOWSKI, J. A. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids — New Mechanisms for Old Drugs. **New England Journal of Medicine** [s.l.], v. 353, n. 16, p. 1711–1723, 2005.

RODRIGUES, K. F.; DIAS-FILHO, M. B. Fungal endophytes in the tropical grasses *Brachiaria brizantha* cv. marandu and *B. humidicola*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 31, n. 12, p. 905–909, 1996.

ROSA, W. *et al.* In vivo anti-inflammatory activity of Fabaceae species extracts screened by a new ex vivo assay using human whole blood. **Phytochemical Analysis** [s.l.], n. July 2020, p. 1–25, 2021.

ROY, K.; MITRA, I. Electrotopological State Atom (E-State) Index in Drug Design, QSAR, Property Prediction and Toxicity Assessment. **Current Computer Aided-Drug Design** [s.l.], v. 8, n. 2, p. 135–158, 2012.

SADGROVE, N. J. *et al.* Phytochemistry Letters GC – MS ‘ chemophenetics ’ on Australian pink-flowered *Phebalium* (Rutaceae) using herbarium leaf material demonstrates phenetic agreement with putative new species. **Phytochemistry Letters** [s.l.], v. 38, n. May, p. 112–120, 2020.

SAFWAN, S. *et al.* Bioactive compounds from an endophytic fungi *Nigrospora aurantiaca*. **Botanical Studies** [s.l.], v. 62, n. 1, 2021.

SCOTTI, L. *et al.* Computational Studies Applied to Anti-inflammatory Drug Discovery: A Review. **Current Organic Chemistry** [s.l.], v. 22, n. 17, p. 1673–1689, 15 out. 2018.

SEGARAN, G.; SATHIAVELU, M. Fungal endophytes: A potent biocontrol agent and a bioactive metabolites reservoir. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology** [s.l.], v. 21, n. May, p. 101284, 2019.

SHAKOUR, Z. T.; FARAG, M. A. Diverse host-associated fungal systems as a dynamic source of novel bioactive anthraquinones in drug discovery: Current status and future perspectives. **Journal of Advanced Research** [s.l.], n. xxxx, 2021.

STAJICH, J. E. *et al.* The Fungi [s.l.]. v. 19, n. 18, p. 840–845, 2009.

TIAN, Y. *et al.* Sydoxanthone C and acremolin B produced by deep-sea-derived fungus *Aspergillus* sp. SCSIO Ind09F01. **Journal of Antibiotics** [s.l.], v. 68, n. 11, p. 703–706, 2015.

TODESCHINI, R.; GRAMATICA, P. Applications. **Perspectives in Drug Discovery and Design** [s.l.], p. 355–380, 1998.

TOGHUEO, R. M. K. Anti-leishmanial and Anti-inflammatory Agents from Endophytes: A Review. **Natural Products and Bioprospecting** [s.l.], v. 9, n. 5, p. 311–328, 2019.

TRISUWAN, K. *et al.* Pyrone derivatives from the marine-derived fungus *Nigrospora* sp. PSU-F18. **Phytochemistry** [s.l.], v. 70, n. 4, p. 554–557, 2009.

TRUJILLO, M. C. B.; TOVAR, A. P. Nitric oxide: Pathophysiological implications. **Revista Colombiana de Anestesiologia** [s.l.], v. 36, n. 1, p. 45–52, 2008.

UKWATTA, K. M.; LAWRENCE, J. L.; WIJAYARATHNA, C. D. The study of antimicrobial, anti-cancer, anti-inflammatory and α -glucosidase inhibitory activities of Nigronaphthaphenyl, isolated from an extract of *Nigrospora sphaerica*. **Mycology** [s.l.], v. 10, n. 4, p. 222–228, 2019.

VAIDYA, A. *et al.* Quantitative Structure-Activity Relationships: A Novel Approach of Drug Design and Discovery. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Pharmacology** [s.l.], v. 1, n. 3, p. 219–232, 2015.

VASUNDHARA, M.; SUDHAKARA REDDY, M.; KUMAR, A. **Secondary metabolites from endophytic fungi and their biological activities**. [s.l.] Elsevier B.V., 2019.

WAINWRIGHT, C. L. *et al.* Future directions for the discovery of natural product-derived immunomodulating drugs: an IUPHAR positional review. **Pharmacological Research** [s.l.], v. 177, n. January, 2022.

WAN, L. *et al.* Flow chemistry in the multi-step synthesis of natural products. **Green Synthesis and Catalysis** [s.l.], v. 3, n. 3, p. 243–258, 2022.

WANG, L. J. *et al.* Identification of anti-inflammatory components in *Sinomenii* Caulis based on spectrum-effect relationship and chemometric methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** [s.l.], v. 167, p. 38–48, 2019.

WEI, S. *et al.* Anti-inflammatory effects of Torin2 on lipopolysaccharide-treated RAW264.7 murine macrophages and potential mechanisms. **Heliyon** [s.l.], v. 8, n. 7, p. e09917, 2022.

WEN, H. *et al.* Phenolic C-Glycosides and Aglycones from Marine-Derived *Aspergillus sp.* and Their Anti-Inflammatory Activities. **Journal of Natural Products**, [s.l.] v. 82, n. 5, p. 1098–1106, 2019.

WORTMAN, J. R. *et al.* The 2008 update of the *Aspergillus nidulans* genome annotation: a community effort. **Fungal genetics and biology : FG & B** [s.l.], v. 46 Suppl 1, n. 1, p. S2–S13, 2009.

XIE, Y. *et al.* Early lung cancer diagnostic biomarker discovery by machine learning methods. **Translational Oncology** [s.l.], v. 14, n. 1, 2021.

XU, J. *et al.* A review of anti-inflammatory compounds from marine fungi, 2000-2018. **Marine Drugs** [s.l.], v. 17, n. 11, p. 2000–2018, 2019.

XU, T. *et al.* Secondary metabolites of the genus *Nigrospora* from terrestrial and marine habitats: Chemical diversity and biological activity. **Fitoterapia** [s.l.], v. 161, n. July, p. 105254, 2022.

YANG, X. *et al.* Anti-Inflammatory Effects of Boldine and Reticuline Isolated from *Litsea cubeba* through JAK2 / STAT3 and NF- κ B Signaling Pathways. 2017.

YANG, Y. *et al.* Identification of novel targets of aurantiamide acetate against osteoporosis through In Silico and In Vitro approaches. **Materials Express** [s.l.], v. 10, n. 12, p. 2056–2062, 2020.

YOON, C. S. *et al.* Anti-neuroinflammatory effect of aurantiamide acetate from the marine fungus *Aspergillus sp.* SF-5921: Inhibition of NF- κ B and MAPK pathways in lipopolysaccharide-induced mouse BV2 microglial cells. **International Immunopharmacology** [s.l.], v. 23, n. 2, p. 568–574, 2014.

YOSHIKAWA, N.; HUTCHISON, G. R. Fast, efficient fragment-based coordinate generation for Open Babel. **Journal of Cheminformatics** [s.l.], v. 11, n. 1, p. 49, 1 dez. 2019.

YU, G. *et al.* Improving chronic disease management for children with knowledge graphs and artificial intelligence. **Expert Systems with Applications** [s.l.], v. 201, n. October 2020, p. 117026, 2022.

YU, J.; WANG, D.; ZHENG, M. Uncertainty quantification: Can we trust artificial intelligence in drug discovery? **iScience** [s.l.], v. 25, n. 8, p. 104814, 2022.

ZHANG, C. *et al.* Circumdatin D Exerts Neuroprotective Effects by Attenuating LPS-Induced Pro-Inflammatory Responses and Downregulating Acetylcholinesterase Activity In Vitro and In Vivo. **Frontiers in Pharmacology** [s.l.], v. 11, n. May, p. 1–16, 2020.

ZHANG, Q. H. *et al.* Two new compounds from the marine *Nigrospora sphaerica*. **Journal of Asian Natural Products Research** [s.l.], v. 11, n. 11, p. 962–966, 2009.

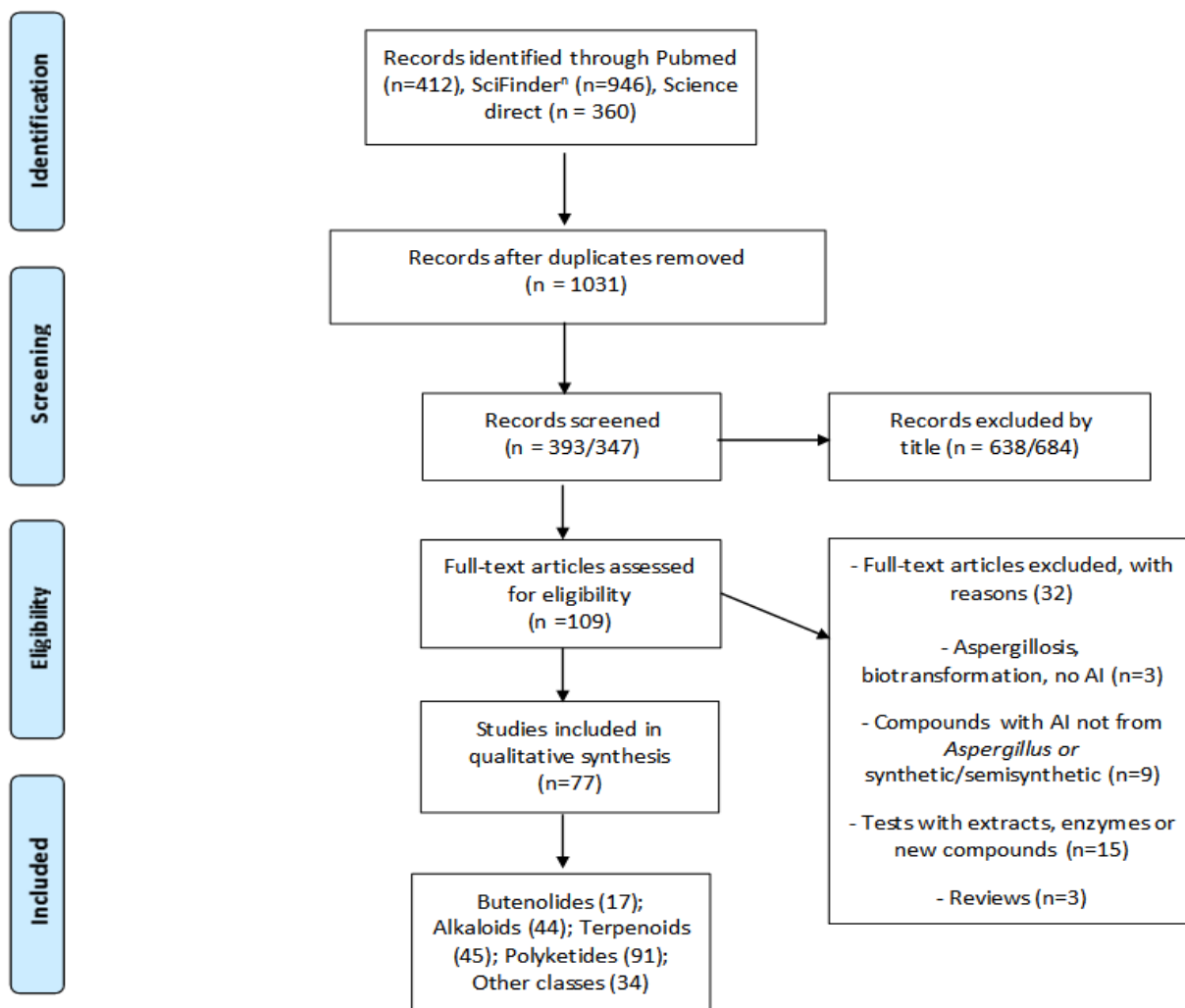
ZHANG, S. *et al.* A Novel Automated Lazy Learning QSAR (ALL-QSAR) Approach: Method Development, Applications, and Virtual Screening of Chemical Databases Using Validated ALL-QSAR Models. **Journal Chem Inf Model** [s.l.], v. 46, n. 5, p. 1984–1995, 2006.

ZHAO, F. *et al.* Natural sources and bioactivities of 2,4-di-tert-butylphenol and its analogs. **Toxins** [s.l.], v. 12, n. 1, p. 1–26, 2020.

ZHOU, Y. *et al.* Asperlin inhibits LPS-evoked foam cell formation and prevents atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice. **Marine Drugs** [s.l.], v. 15, n. 11, p. 2–13, 2017.

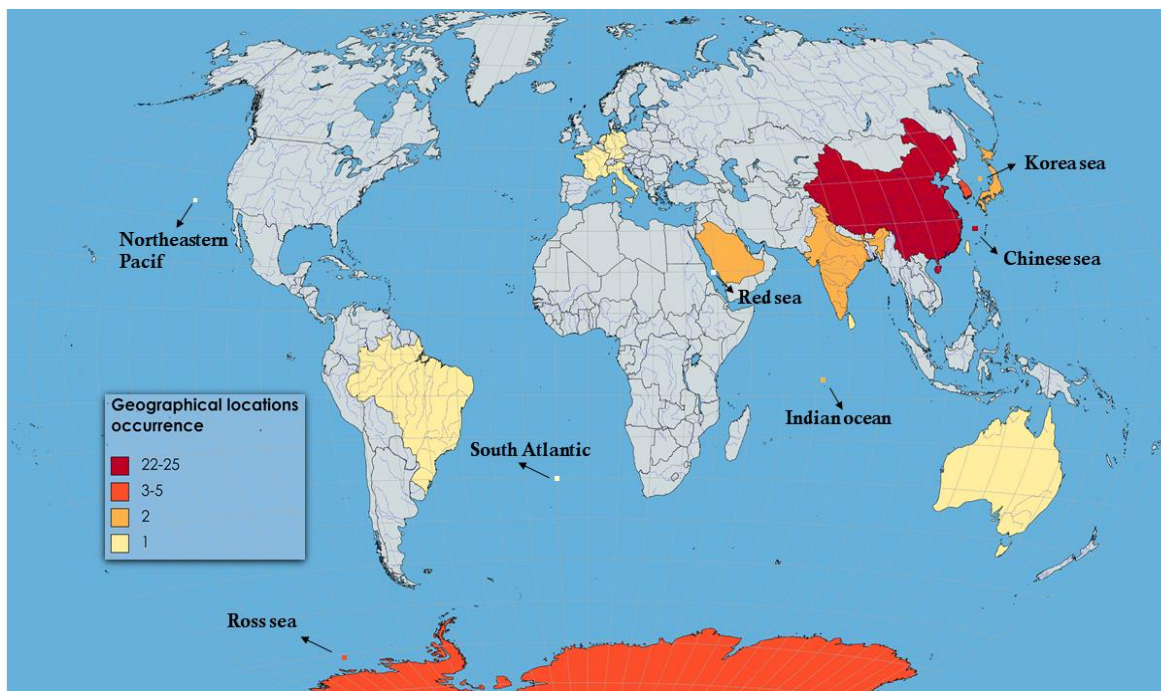
ANEXOS

ANEXO A - Diagrama de fluxo Prisma da literatura de revisão sistemática de metabólitos secundários e resultados de atividade anti-inflamatória de *Aspergillus sp.* com base na declaração Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA).



FONTE: Do autor

ANEXO B - Distribuição geográfica e região de coleta mundial *Aspergillus sp.* dos estudos incluídos na revisão sistemática. China (n = 25); mar chinês (n = 22); Antártica (n = 5); Coreia, mar da Coreia (n = 3 cada), Índia, Japão, Arábia Saudita, Oceano Índico e Oceano Atlântico Sul (n = 2 cada); Austrália, Brasil, França, Alemanha, Holanda, Mar Vermelho, Nordeste do Pacífico, Sri Lanka, Taiwan, Vietnã e EUA (n = 1 cada). As localizações geográficas de ocorrência dos estudos foram marcadas no mapa-múndi; as cores indicam o número de estudos realizados com *Aspergillus sp.*



FONTE: Do autor

ANEXO C - Estratégia de busca detalhada contendo as bases de dados e o número de referências extraídas

<i>PubMed-MEDLINE – Search filters</i>	<i>Records</i>
#1 Pharmacological activity: “anti-inflammatory” [MeSH Terms]	277,080
#2 Endophytic fungal: “Aspergillus” [MeSH Terms]	52,380
#3 Combined search: (#1 AND #2)	412
#4 Research limit: (#3) AND #4 NOT Review[document type]	365
<i>SCI-FINDER – Search filters</i>	<i>Records</i>

#1 Pharmacological activity: “anti-inflammatory”	473,167
#2 Endophytic fungal: “Aspergillus”	146,658
#3 Combined search: “Aspergillus” AND “anti-inflammatory”	1405
#4 Research limit (Document type – Include only): References	946

WEB OF SCIENCE – Search filters	Records
#1 Pharmacological activity: “anti-inflammatory” TOPIC (tittle, abstract, keywords)	177,328
#2 Endophytic fungal: “Aspergillus” TOPIC (tittle, abstract, keywords)	79,887
#3 Combined search: #1 AND #2	413
#4 Research limit (Document type – Exclude): Reviews	360

FONTE: Do autor

ANEXO D - Banco de dados de produtos químicos anti-inflamatórios de *Aspergillus* (AACD) com a descrição de compostos químicos isolados de *Aspergillus sp.*, espécie, hospedeiro, partes vegetais e efeitos anti-inflamatórios relatados.

ID	MF	mass	class	name
1	C ₂₅ H ₂₂ N ₂ O ₄	414.1580	alkaloids	asterriquinol E
2	C ₂₅ H ₂₂ N ₂ O ₅	430.1529	alkaloids	asterriquinol F
3	C ₂₆ H ₂₄ N ₂ O ₄	428.1736	alkaloids	asterriquinol D methyl ether
4	C ₂₄ H ₃₀ O ₇	430.1992	terpenoids	terretonin C
5	C ₂₆ H ₃₂ O ₉	488.2046	terpenoids	terretonin
6	C ₂₆ H ₃₂ O ₈	472.2097	terpenoids	terretonin A
7	C ₂₃ H ₃₀ N ₂ O ₂	366.2307	alkaloids	fumigaclavine C
8	C ₂₅ H ₃₆ O ₂	368.2715	terpenoids	21-deoxo-21- hydroxy-6- <i>epi</i> - ophiobolin G
9	C ₂₅ H ₃₆ O ₄	400.2613	terpenoids	asperophiobolin H
10	C ₂₅ H ₃₄ O ₃	382.2508	terpenoids	asperophiobolin I
11	C ₂₅ H ₃₈ O ₅	418.2719	terpenoids	asperophiobolin J
12	C ₂₅ H ₃₆ O ₄	400.2614	terpenoids	ophiobolin Q
13	C ₂₅ H ₃₈ O ₃	386.2821	terpenoids	ophiobolin U
14	C ₁₁ H ₁₆ O ₅ S	260.0718	alkaloids	varicuothiol A
15	C ₁₁ H ₁₆ O ₅ S	260.0718	alkaloids	varicuothiol B
16	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	252.1725	other classes-organic acids and phenolics	(S)-(+)-sydonol
17	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.1620	terpenoids	aspergillusene A
18	C ₁₆ H ₁₄ O ₇	318.0739	polyketides	AGI-B4
19	C ₂₉ H ₄₂ O ₃	438.3134	other classes -steroids	asperergoster A
20	C ₂₅ H ₃₄ O ₂	366.2559	terpenoids	6- <i>epi</i> -ophiobolin G

21	C ₂₅ H ₃₈ O ₄	402.2770	terpenoids	(6 α)-18,19- <i>O</i> -tetrahydro-18,19-dihydroxyophiobolins G
22	C ₂₅ H ₃₆ O ₄	400.2614	terpenoids	asperophiobolins G
23	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₁	436.1006	polyketides	eurobenzophenone B
24	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	418.0900	polyketides	euroanthone A
25	C ₁₉ H ₁₆ O ₁₀	404.0743	polyketides	euroanthone B
26	C ₁₉ H ₁₆ O ₉	388.0794	polyketides	(+)-1- <i>O</i> -demethylvariecolorquinones A
27	C ₁₆ H ₁₄ O ₇	318.0740	polyketides	14- <i>O</i> -demethylsulochrin
28	C ₂₀ H ₁₈ O ₉	402.0951	polyketides	variecolorquinone A
29	C ₁₇ H ₁₆ O ₇	332.0896	polyketides	14 -de- <i>O</i> -methyl-5-methoxysulochrin
30	C ₁₇ H ₁₆ O ₇	332.0896	polyketides	sulochrin
31	C ₁₈ H ₁₈ O ₇	346.1053	polyketides	5-methoxysulochrin
32	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.0477	polyketides	calyxanthone
33	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.0634	polyketides	yicathin C
34	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.079041	polyketides	yicathin A
35	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.0634	polyketides	1-methoxy-14-dehydroxywentiquinone C
36	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316.0583	polyketides	wentiquinone C
37	C ₁₈ H ₁₈ O ₇	346.1052	polyketides	3-de- <i>O</i> -methylsulochrin
38	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328.0583	polyketides	dermolutein
39	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	422.0849	polyketides	eurobenzophenone A
40	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	304.0582	polyketides	eurobenzophenone C
41	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.0685	polyketides	methylemodin
42	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.0790	polyketides	yicathin B
43	C ₂₈ H ₃₄ O ₈	498.2254	butenolides	aspernolide F
44	C ₂₃ H ₂₄ Cl ₂ O ₇	482.0899	polyketides	falconensin A
45	C ₂₂ H ₂₄ O ₇	400.1522	polyketides	falconensin I
46	C ₂₄ H ₂₄ Cl ₂ O ₈	510.0848	polyketides	falconensin O
47	C ₂₄ H ₂₆ O ₈	442.1628	polyketides	falconensin S
48	C ₂₂ H ₂₂ Cl ₂ O ₇	468.074249	polyketides	falconensin M
49	C ₂₂ H ₁₈ Cl ₂ O ₇	464.0430	polyketides	falconensin H
50	C ₂₂ H ₂₄ Cl ₂ O ₇	470.0899	polyketides	falconensin N
51	C ₂₂ H ₂₃ BrO ₇	478.0627	polyketides	falconensin Q
52	C ₂₃ H ₂₅ BrO ₇	1060.5032	polyketides	falconensin R
53	C ₃₂ H ₂₆ O ₁₀	570.1526	polyketides	aurasperone A
54	C ₃₁ H ₂₈ O ₁₂	592.1580	polyketides	aurasperone C
55	C ₃₁ H ₂₆ O ₁₁	574.1475	polyketides	aurasperone F
56	C ₂₁ H ₃₂ O ₇	396.2148	terpenoids	1,9,9-Trihydroxy-6,6,9-trimethyl-1,3,5,5a,6,7,8,9,9,9-decahydronaphtho[1,2-c]furan5-yl hexanoate
57	C ₂₁ H ₃₂ O ₆	380.2199	terpenoids	9,9-Dihydroxy-6,6,9-trimethyl-1-oxo-1,3,5,5,6,7,8,9,9,9-decahydronaphtho[1,2-c]furan-5-yl hexanoate (2)
58	C ₁₈ H ₁₀ N ₂ O ₄	318.0641	polyketides	melanina
59	X	x	other classes - others-polysaccharides	galactosaminogalactan
60	C ₂₈ H ₄₂ O ₇	490.2931	other classes -steroids	asperflosterol
61	C ₂₅ H ₃₈ O ₃	386.2820	other classes -steroids	aspersecosteroid A
62	C ₂₉ H ₄₂ O ₉	534.2829	other classes -steroids	aspersecosteroid B
63	C ₂₁ H ₃₃ NO ₃	347.2460	alkaloids	preussin G
64	C ₂₁ H ₃₅ NO	317.2719	alkaloids	preussin I
65	C ₁₉ H ₃₁ NO ₂	305.2355	alkaloids	preussin J

66	C ₁₅ H ₂₁ NO ₃	263.1521	alkaloids	preussin C
67	C ₁₇ H ₂₅ NO ₃	291.1834	alkaloids	preussin D
68	C ₁₈ H ₂₇ NO ₃	305.1991	alkaloids	preussin E
69	C ₁₉ H ₂₉ NO ₃	319.2148	alkaloids	preussin F
70	C ₂₁ H ₃₅ NO ₂	333.2668	alkaloids	preussin H
71	C ₂₁ H ₃₅ NO ₂	333.266785	alkaloids	preussin K
72	C ₂₈ H ₄₀ O ₇	488.2774	other classes -steroids	asperfloroid
73	C ₂₈ H ₄₀ O ₈	504.2723	other classes -steroids	asperflotone
74	C ₂₄ H ₂₄ O ₇	424.1522	butenolides	butyrolactone I
75	C ₂₄ H ₂₄ O ₇	424.1522	butenolides	aspernolide A
76	C ₂₃ H ₂₄ O ₅	380.1624	butenolides	asperteretal A
77	C ₂₂ H ₂₄ O ₆	384.1573	butenolides	asperteretal C
78	C ₁₉ H ₁₆ O ₇	356.0896	butenolides	butyrolactone II
79	C ₂₄ H ₂₄ O ₈	440.1471	butenolides	butyrolactone III
80	C ₁₉ H ₁₆ O ₈	372.0845	polyketides	guanxidone A
81	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	178.0630	other classes-organic acids and phenolics	mellein
82	C ₉ H ₁₂ O ₄	184.0736	polyketides	asperlactone
83	C ₉ H ₁₂ O ₄	184.0736	polyketides	aspyrone
84	C ₉ H ₁₄ O ₅	202.0841	polyketides	aspilactonol B
85	C ₈ H ₁₀ O ₄	170.0579	polyketides	penicillic acid
86	C ₇ H ₈ O ₂	124.0524	other classes-organic acids and phenolics	toluhydroquinone
87	C ₂₈ H ₃₈ O ₆	470.2668	other classes -steroids	asperfloketal A
88	C ₂₈ H ₃₈ O ₆	470.2668	other classes -steroids	asperfloketal B
89	C ₁₆ H ₂₀ O ₆	308.1259	polyketides	5'-hydroxyasperentin
90	C ₂₁ H ₂₈ O ₉	424.1733	polyketides	cladosporin 8-O- α -ribofuranoside
91	C ₁₆ H ₂₀ O ₅	292.1310	polyketides	cladosporin/asperentin
92	C ₁₇ H ₂₂ O ₅	306.1467	polyketides	asperentin 6-O-methyl ether
93	C ₁₇ H ₂₂ O ₅	306.1467	polyketides	cladosporin 8-O-methyl ether
94	C ₁₆ H ₂₀ O ₆	308.1260	polyketides	4'-hydroxyasperentin
95	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.0685	polyketides	TMC-256C1
96	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	338.1154	other classes - others-phytoalexins	glyceollin I
97	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	338.1154	other classes - others-phytoalexins	glyceollin III
98	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	338.1154	other classes - others-phytoalexins	glyceollin II
99	C ₂₃ H ₂₆ O ₇	414.1679	polyketides	6,8,1'-tri 18 O-methylaverantin
100	C ₇ H ₈ O ₂	124.0524	other classes-organic acids and phenolics	3-hydroxybenzyl alcohol
101	C ₃₀ H ₄₃ N ₃ O ₄	509.3254	alkaloids	5-prenyl-dihydrorubrumazine A
102	C ₂₉ H ₄₀ ClN ₃ O ₃	513.2758	alkaloids	5-prenyl-dihydrovariecolorin F
103	C ₁₉ H ₂₄ O ₅	332.1624	polyketides	asperanin A
104	C ₁₉ H ₂₄ O ₅	332.1624	polyketides	asperanin B
105	C ₁₅ H ₁₈ O ₅	278.1154	polyketides	asperanin C
106	C ₈ H ₁₂ O ₃	156.0786	polyketides	dihydroterrein
107	C ₁₂ H ₁₆ O ₅	240.0998	polyketides	dihydroterrein di-acetate
108	C ₈ H ₁₀ O ₃	154.0630	polyketides	terrein
109	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	230.0943	polyketides	diorcinol
110	C ₁₀ H ₁₂ O ₅	212.0685	polyketides	asperlin
111	C ₂₆ H ₂₉ N ₃ O ₃	431.2209	polyketides	asperversiamide G

112	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₄	310.0954	alkaloids	ciclofenol
113	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₃	294.1004	alkaloids	ciclofenin
114	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₁₀	476.143097	alkaloids	decumbenone A
115	C ₁₅ H ₁₁ NO ₃	253.0739	alkaloids	viridicatol
116	C ₂₂ H ₂₁ NO ₅	379.1421	alkaloids	asperimide D
117	C ₂₂ H ₂₁ NO ₅	379.1421	alkaloids	asperimide C
118	C ₂₇ H ₃₂ O ₇	468.2148	terpenoids	yaminterritrens B
119	C ₂₄ H ₂₆ ClNO ₉	507.1296	other classes - others- mycotoxin	ochratoxin A1
120	C ₃₄ H ₄₁ N ₆ O ₄	597.3189	alkaloids	diketopiperazine dimer
121	C ₂₄ H ₄₁ N ₄ O ₆	481.3026	other classes- peptide derivative	sclerotiotide L
122	C ₂₄ H ₃₆ N ₄ O ₆	476.2635	other classes- peptide derivative	violaceomide A
123	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	250.1569	butenolides	versicolactone B
124	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	212.1776	other classes- others- aliphatic alcohol	4,8-dimethyl-undecane-3,7-diene- 1,11-diol
125	C ₂₅ H ₂₅ N ₃ O ₄	431.1845	alkaloids	asterrelenin
126	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₃	300.1474	alkaloids	luteoride E
127	C ₂₅ H ₂₈ O ₇	440.1835	butenolides	versicolactone G
128	C ₂₄ H ₃₆ O ₅	404.2563	polyketides	lovastatin
129	C ₂₈ H ₃₀ O ₉	510.1889	polyketides	territrem A
130	C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₇	465.1536	polyketides	methyl 3,4,5-trimethoxy-2-(2- (nicotinamido)benzamido)benzoat e
131	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	212.1776	polyketides	(3 <i>E</i> ,7 <i>E</i>)-4,8-dimethyl-undecane- 3,7-diene-1,11-diol
132	C ₂₈ H ₄₀ O ₃	424.2977	other classes -steroids	14 α -hydroxyergosta-4,7,22- triene-3,6-dione
133	C ₁₅ H ₁₆ O ₃	244.1099	polyketides	cordyol E
134	C ₁₄ H ₁₄ O ₅	262.0841	polyketides	violaceol II
135	C ₃₂ H ₃₆ O ₁₁	596.2258	terpenoids	1,2-dehydro-terrehydroaustin
136	C ₃₂ H ₄₆ O ₅	510.3345	other classes -steroids	ergosterdiacids A
137	C ₃₂ H ₄₆ O ₅	510.3345	other classes -steroids	ergosterdiacids B
138	C ₁₃ H ₂₂ N ₂ O	222.1732	alkaloids	nigragillin
139	C ₁₁ H ₁₈ O ₄	214.1205	other classes-organic acids and phenolics	hexylitaconic acid
140	C ₁₁ H ₁₆ O ₆	244.0947	other classes-organic acids and phenolics	tensyucic acid
141	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.0951	other classes-organic acids and phenolics	chlorogenic acid
142	C ₂₀ H ₂₂ O	278.1671	other classes - others- pigment	asperenone
143	C ₂₀ H ₂₀ O ₃	308.1412	polyketides	asnipyron B
144	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	306.0739	polyketides	fusarubin
145	C ₂₈ H ₃₄ O ₈	498.2254	butenolides	aspernolides L
146	C ₂₉ H ₃₂ O ₉	524.2046	butenolides	Aspernolides M
147	C ₂₄ H ₂₄ O ₇	424.1522	butenolides	butyrolactone I
148	C ₂₄ H ₂₆ O ₉	458.1577	butenolides	butyrolactone VI
149	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.1620	terpenoids	7-deoxy-7,14-didehydroxydonol
150	C ₁₅ H ₂₀ O ₅	280.1311	terpenoids	asperbisabolane F
151	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	206.0943	terpenoids	asperbisabolane L
152	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	250.1205	terpenoids	aspercuparene B
153	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.1620	terpenoids	aspergillusene A
154	C ₂₀ H ₂₂ O ₃	310.1569	butenolides	terrusnolides A
155	C ₂₃ H ₂₄ O ₆	396.1573	butenolides	terrusnolides B

156	C ₂₄ H ₂₆ O ₆	410.1729	butenolides	terrusnolides C
157	C ₂₃ H ₂₄ O ₆	396.1573	butenolides	terrusnolides D
158	C ₂₇ H ₃₁ N ₃ O ₅	477.2264	alkaloids	varioxepine B
159	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₁₀	476.1431	alkaloids	aspergillusol A
160	C ₃₁ H ₂₆ O ₁₁	574.1475	alkaloids	aspermigin
161	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	246.0892	alkaloids	epi-aspergillusol
162	C ₁₀ H ₉ NO ₅	223.0481	alkaloids	pyranonigrin A
163	C ₆ H ₆ O ₄	142.0266	other classes-organic acids and phenolics	5-(hydroxymethyl)-2-furancarboxylic acid
164	C ₂₂ H ₁₈ O ₈	410.1002	other classes-organic acids and phenolics	orlandin
165	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.0790	polyketides	fonsecin
166	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	302.0790	polyketides	nigerasperone A
167	C ₃₁ H ₂₆ O ₁₁	574.1475	polyketides	nigerasperone C
168	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	286.0841	polyketides	rubrofusarin B
169	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.0684	polyketides	TMC-256C1
170	C ₃₁ H ₂₄ O ₁₀	556.1370	polyketides	asperpyrone A
171	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.0684	polyketides	TMC-256A1-C1
172	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.0790	polyketides	TMC-256B1
173	C ₃₄ H ₂₇ N ₃ O ₇	589.1849	polyketides	variecolortide B
174	C ₂₂ H ₂₅ NO ₈	431.1581	alkaloids	pseurotin A
175	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₀	528.1995	terpenoids	aspermeroterpene A
176	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₀	528.1995	terpenoids	aspermeroterpene B
177	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₀	530.2152	terpenoids	aspermeroterpene C
178	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228.0786	dibenzofurane	3,7-dihydroxy-1,9-dimethyldibenzofuran
179	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228.0786	polyketides	1,9-dimethyldibenzo[$\square\square$ D]furan-3,7-diol
180	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	246.0892	polyketides	3-(3-hydroxy-5-methylphenoxy)-5-methylbenzene-1,2-diol
181	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	230.0943	polyketides	5,5'-oxybis(3-methylphenol)
182	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	246.0892	polyketides	cordyol C
183	C ₂₄ H ₂₄ O ₇	424.1522	butenolides	butyrolactone I
184	C ₈ H ₁₀ O ₃	154.0630	polyketides	terrein
185	C ₃₈ H ₄₈ O ₄	568.3553	polyketides	cowabenzophenone A
186	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	252.1725	terpenoids	ochracene B
187	C ₁₅ H ₂₂ O ₄	266.1518	terpenoids	ochracene C
188	C ₂₀ H ₃₂ O ₄	336.2301	terpenoids	dihydrobipolaroxin
189	C ₂₉ H ₃₆ O ₇	496.2461	terpenoids	dihydrobipolaroxins C
190	C ₁₅ H ₁₈ O ₄	262.1205	terpenoids	dihydrobipolaroxins D
191	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.1518	terpenoids	dihydrobipolaroxins B
192	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₃	294.1004	alkaloids	cyclopenin
193	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₄	310.0954	alkaloids	cyclophenol
194	C ₁₆ H ₁₃ NO ₃	267.0895	alkaloids	3-O-methylviridicatol
195	C ₁₆ H ₁₃ NO ₃	267.0895	alkaloids	6-hydroxy-3-methoxyviridicatin.
196	C ₂₆ H ₂₉ N ₃ O ₄	447.2158	alkaloids	notoamide B
197	C ₂₂ H ₂₆ O ₉	434.1576	terpenoids	aspertetranone A
198	C ₂₂ H ₂₈ O ₉	436.1733	terpenoids	aspertetranone D
199	C ₂₆ H ₃₃ N ₃ O ₄	451.2471	alkaloids	asperochramides A
200	C ₂₆ H ₂₉ N ₃ O ₃	431.2209	alkaloids	stephacidin A
201	C ₂₇ H ₃₁ N ₃ O ₅ S	509.1985	alkaloids	taichunamide D
202	C ₂₆ H ₃₈ O ₁₀	510.2465	other classes-organic acids and phenolics	carnemycin H
203	C ₂₁ H ₃₂ O ₇	396.2148	other classes-organic acids and phenolics	hydroxymethyl-6-(3-methylbut-2-en-1-yl)-3-propylphenyl-O- \square -D-glucoside

204	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	232.1463	other classes-organic acids and phenolics	5-[(3 <i>E</i> ,5 <i>E</i>)-3,5-Nonadienyl]-1,3-benzenediol
205	C ₂₆ H ₃₂ O ₉	488.2046	terpenoids	terretonin
206	C ₂₆ H ₃₂ O ₈	472.2097	terpenoids	terretonin A
207	C ₂₆ H ₃₄ O ₈	474.2254	terpenoids	terretonin D
208	C ₂₆ H ₃₄ O ₈	474.2254	terpenoids	terretonin D1
209	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.1619	terpenoids	brasilanone A
210	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.1619	terpenoids	brasilanone E
211	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.0633	polyketides	aracarpene 1
212	C ₂₂ H ₁₈ N ₄ O ₄	402.1328	alkaloids	isotryptoquivaline F
213	C ₁₆ H ₂₂ O ₅	294.1467	polyketides	14,15-secocurvularin
214	C ₁₈ H ₂₆ O ₆	338.1729	polyketides	dothiorelone B
215	C ₁₈ H ₂₆ O ₆	338.1729	polyketides	dothiorelone C
216	C ₂₂ H ₂₂ O ₅	366.1467	butenolides	asperteretal F
217	C ₁₈ H ₁₈ O ₇	346.1053	polyketides	1,2 seco-trypacidin
218	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	286.0841	polyketides	1- <i>O</i> -methyl emodin
219	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.0528	polyketides	aloe emodin
220	C ₁₉ H ₂₀ O ₈	376.1158	polyketides	asperfumin
221	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254.0579	polyketides	chrysophanol
222	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	416.1107	polyketides	chrysophanol-8- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside
223	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.0528	polyketides	emodin
224	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.1056	polyketides	emodin-8- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside
225	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₀	458.1213	polyketides	emodin-8- <i>O</i> -β-D- <i>O</i> -acetylglucopyranoside
226	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	450.1162	polyketides	nepalenside A
227	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₀	448.1369	polyketides	patientside A
228	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₀	448.1369	polyketides	patientside B
229	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.0685	polyketides	physcion
230	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.0685	polyketides	questin
231	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	344.0896	polyketides	trypacidin
232	C ₂₇ H ₂₈ N ₂ O ₄	444.2049	other classes- peptide derivative	aurantiamide acetate
233	C ₂₃ H ₃₀ N ₂ O ₂	366.2307	alkaloids	fumigaclavine C
234	C ₂₁ H ₁₉ N ₃ O ₅	393.1325	alkaloids	circumdatin D
235	C ₁₅ H ₂₄ O ₄	268.1675	terpenoids	gxsespene A
236	C ₂₆ H ₃₀ O ₉	486.1889	terpenoids	astellolide B
237	C ₂₄ H ₂₈ O ₈	444.1784	terpenoids	astellolide G
238	C ₂₂ H ₂₆ O ₇	402.1679	terpenoids	parasiticolide A
239	C ₂₄ H ₂₈ O ₈	444.1784	terpenoids	parasiticolide B
240	C ₉ H ₁₄ O ₄	186.0892	polyketides	aspilactonol E
241	C ₂₄ H ₂₈ O ₈	444.1784	terpenoids	parasiticolide B
242	C ₁₀ H ₁₂ O ₅	212.068466	polyketide	Asperlin
243	C ₁₀ H ₁₆ O ₅	216.0998	polyketide	Asperochratide A

ID	specie	host	source
1	<i>Aspergillus</i> sp. CBS-P-2	x	volcanic soil sample
2	<i>Aspergillus</i> sp. CBS-P-2	x	volcanic soil sample
3	<i>Aspergillus</i> sp. CBS-P-2	x	volcanic soil sample
4	<i>Aspergillus</i> sp. CBS-P-2	x	volcanic soil sample
5	<i>Aspergillus</i> sp. CBS-P-2	x	volcanic soil sample
6	<i>Aspergillus</i> sp. CBS-P-2	x	volcanic soil sample
7	<i>A. fumigatus</i>	x	cultivated strain
8	<i>Aspergillus</i> sp. ZJ-68		leaves of the mangrove plant
9	<i>Aspergillus</i> sp. ZJ-68	<i>Kandelia candel</i> (L.) Druce	leaves of the mangrove plant
10	<i>Aspergillus</i> sp. ZJ-68	<i>Kandelia candel</i> (L.) Druce	leaves of the mangrove plant
11	<i>Aspergillus</i> sp. ZJ-68	<i>Kandelia candel</i> (L.) Druce	leaves of the mangrove plant
12	<i>Aspergillus</i> sp. ZJ-68	<i>Kandelia candel</i> (L.) Druce	leaves of the mangrove plant
13	<i>Aspergillus</i> sp. ZJ-68	<i>Kandelia candel</i> (L.) Druce	leaves of the mangrove plant
14	<i>A. versicolor</i>	unidentified soft coral	x
15	<i>A. versicolor</i>	unidentified soft coral	x
16	<i>A. sydowii</i>	marine sediment	x
17	<i>A. sydowii</i>	marine sediment	x
18	<i>A. sydowii</i>	marine sediment	x
19	<i>A. versicolor</i>	<i>Anoectochilus roxburghii</i> (Wall.) Lin	x
20	<i>Aspergillus</i> sp	Soyabean seeds cultured	x
21	<i>Aspergillus</i> sp	Soyabean seeds cultured	x
22	<i>Aspergillus</i> sp	Soyabean seeds cultured	x
23	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
24	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
25	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
26	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
27	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
28	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
29	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
30	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
31	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
32	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
33	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
34	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
35	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
36	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
37	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
38	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
39	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
40	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
41	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
42	<i>A. europaeus</i> WZXY-SX-4-	<i>Xestospongia testudinaria</i>	marine sponge
43	<i>A. terreus</i>	<i>Carthamus lanatus</i> L.	roots
44	<i>A. falconensis</i>	x	red sea sample
45	<i>A. falconensis</i>	x	red sea sample
46	<i>A. falconensis</i>	x	red sea sample
47	<i>A. falconensis</i>	x	red sea sample
48	<i>A. falconensis</i>	x	red sea sample
49	<i>A. falconensis</i>	x	red sea sample
50	<i>A. falconensis</i>	x	red sea sample
51	<i>A. falconensis</i>	x	red sea sample
52	<i>A. falconensis</i>	x	red sea sample
53	<i>A. niger</i> SCSIO Jcsw6F30	<i>Scagassum</i> sp.	marine alga
54	<i>A. niger</i> SCSIO Jcsw6F30	<i>Scagassum</i> sp.	marine alga
55	<i>A. niger</i> SCSIO Jcsw6F30	<i>Scagassum</i> sp.	marine alga

56	<i>Aspergillus</i> sp. strain IBWF001	unidentified marine organism	x
57	<i>Aspergillus</i> sp. strain IBWF002	unidentified marine organism	x
58	<i>A. nidulans</i>	x	cultivated strain
59	<i>A. fumigatus</i> Af293	x	cultivated strain
60	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
61	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
62	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
63	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
64	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
65	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
66	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
67	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
68	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
69	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
70	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
71	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
72	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
73	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
74	<i>A. terreus</i>	<i>Suriana maritima</i> L., <i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i> (J.W.Mast.) Kitam.	leaves
75	<i>A. terreus</i>	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i> (J.W.Mast.) Kitam.	leaves
76	<i>A. terreus</i>	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i> (J.W.Mast.) Kitam.	leaves
77	<i>A. terreus</i>	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i> (J.W.Mast.) Kitam.	leaves
78	<i>A. terreus</i>	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i> (J.W.Mast.) Kitam.	leaves
79	<i>A. terreus</i>	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i> (J.W.Mast.) Kitam.	leaves
80	<i>Aspergillus</i> sp. GXNU-A9	<i>Acanthus ilicifolius</i> L.	Mangrove plant
81	<i>A. ochraceopetaliformis</i>	sponge-derived	x
82	<i>A. ochraceopetaliformis</i>	sponge-derived	x
83	<i>A. ochraceopetaliformis</i>	sponge-derived	x
84	<i>A. ochraceopetaliformis</i>	sponge-derived	x
85	<i>A. ochraceopetaliformis</i>	sponge-derived	x
86	<i>Aspergillus</i> sp	Soyabean seeds cultured	x
87	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
88	<i>A. flocculosus</i> 16D-1	unidentified sponge	x
89	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5974/SF-5974	red macroalgae	Surface
90	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5974/SF-5975	red macroalgae	Surface
91	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5974/SF-5976, <i>A. flavus</i>	red macroalgae	Surface
92	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5974/SF-5976, <i>A. flavus</i>	red macroalgae	Surface
93	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5974/SF-5976, <i>A. flavus</i>	red macroalgae	Surface
94	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5974/SF-5976, <i>A. flavus</i>	red macroalgae	Surface
95	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5974/SF-5976, <i>A. flavus</i>	red macroalgae	Surface
96	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5974/SF-5976, <i>A. flavus</i>	red macroalgae	Surface
97	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5974/SF-	red macroalgae	Surface

	5976, <i>A. flavus</i>		
98	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5974/SF-5976, <i>A. flavus</i>	red macroalgae	Surface
99	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5974/SF-5976, <i>A. flavus</i>	red macroalgae	Surface
100	<i>A. nidulans</i> KZR-132	x	forest soil sample
101	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5976	unidentified marine organism	x
102	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5976	unidentified marine organism	x
103	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5976	unidentified marine organism	x
104	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5976	unidentified marine organism	x
105	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5976	unidentified marine organism	x
106	<i>A. novofumigatus</i> IFM 55215	strain collection	x
107	<i>A. novofumigatus</i> IFM 55215	strain collection	x
108	<i>A. novofumigatus</i> IFM 55215	strain collection	x
109	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIO Ind09F01	deep-sea sediment	sea
110	<i>Aspergillus</i> sp. SF-5044, <i>A. versicolor</i> LZD4403	isolated from an inter-tidal sediment, gorgonian (<i>Pseudopterogorgia</i> sp.)	x, marine
111	<i>A. versicolor</i>	unidentified sponge	x
112	<i>A. austroafricanus</i> Y32-2	unknown seawater	x
113	<i>A. austroafricanus</i> Y32-2	unknown seawater	x
114	<i>A. austroafricanus</i> Y32-2	unknown seawater	x
115	<i>A. austroafricanus</i> Y32-2	unknown seawater	x
116	<i>A. terreus</i>	<i>Suriana maritima</i> L.	leaves
117	<i>A. terreus</i>	<i>Suriana maritima</i> L.	leaves
118	<i>A. terreus</i>	x	hot spring zone soil
119	<i>A. ochraceopetaliformis</i>	sponge-derived	x
120	<i>A. violaceofuscus</i>	<i>Reniochalina</i> sp.	inner part of sponge
121	<i>A. violaceofuscus</i>	<i>Reniochalina</i> sp.	inner part of sponge
122	<i>A. violaceofuscus</i>	<i>Reniochalina</i> sp.	inner part of sponge
123	<i>A. terreus</i>	<i>Sarcophyton subviride</i>	coral
124	<i>A. terreus</i>	<i>Sarcophyton subviride</i>	coral
125	<i>A. terreus</i>	<i>Sarcophyton subviride</i>	coral
126	<i>A. terreus</i>	<i>Sarcophyton subviride</i>	coral
127	<i>A. terreus</i>	<i>Sarcophyton subviride</i>	coral
128	<i>A. terreus</i> , <i>A. niger</i>	<i>Sarcophyton subviride</i> , <i>Taxus baccata</i>	coral
129	<i>A. terreus</i>	<i>Sarcophyton subviride</i>	coral
130	<i>A. terreus</i>	<i>Sarcophyton subviride</i>	coral
131	<i>A. terreus</i>	<i>Sarcophyton subviride</i>	coral
132	<i>A. terreus</i>	<i>Sarcophyton subviride</i>	coral
133	<i>A. sydowii</i> J05B-7F-4	<i>Stelletta</i> sp	marine sponge
134	<i>A. sydowii</i> J05B-7F-4	<i>Stelletta</i> sp	marine sponge
135	<i>A. terreus</i>	<i>Kandelia obovata</i> Sheue, H.Y. Liu & J. Yong	mangrove plant
136	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aegiceras corniculatum</i> (L.) Blanco	soil of mangrove plant
137	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aegiceras corniculatum</i> (L.) Blanco	soil of mangrove plant
138	<i>A. niger</i>	<i>Mallotus floribundus</i> (Blume) Müll.Arg.	all parts
139	<i>A. niger</i>	<i>Mallotus floribundus</i> (Blume) Müll.Arg.	all parts
140	<i>A. niger</i>	<i>Mallotus floribundus</i> (Blume) Müll.Arg.	all parts
141	<i>A. niger</i>	<i>Mallotus floribundus</i> (Blume) Müll.Arg.	all parts
142	<i>A. niger</i>	<i>Mallotus floribundus</i> (Blume) Müll.Arg.	all parts
143	<i>A. niger</i>	<i>Mallotus floribundus</i> (Blume) Müll.Arg.	all parts
144	<i>A. niger</i>	<i>Mallotus floribundus</i> (Blume) Müll.Arg.	all parts
145	<i>A. versicolor</i>	<i>Pulicaria crispa</i> (Forssk.) Oliv.	roots

146	<i>A. versicolor</i>	<i>Pulicaria crispa</i> (Forssk.) Oliv.	roots
147	<i>A. versicolor</i>	<i>Pulicaria crispa</i> (Forssk.) Oliv.	roots
148	<i>A. versicolor</i>	<i>Pulicaria crispa</i> (Forssk.) Oliv.	roots
149	<i>A. sydowii</i> MCCC 3A00324	x	deep-sea sediment
150	<i>A. sydowii</i> MCCC 3A00324	x	deep-sea sediment
151	<i>A. sydowii</i> MCCC 3A00324	x	deep-sea sediment
152	<i>A. sydowii</i> MCCC 3A00324	x	deep-sea sediment
153	<i>A. sydowii</i> MCCC 3A00324	x	deep-sea sediment
154	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.	roots
155	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.	roots
156	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.	roots
157	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.	roots
158	<i>A. terreus</i>	<i>Sarcophyton subviride</i>	soft inner coral
159	<i>A. niger</i> IMBC NMTP01	x	x
160	<i>A. niger</i> IMBC NMTP01	x	x
161	<i>A. niger</i> IMBC NMTP01	x	x
162	<i>A. niger</i> IMBC NMTP01	x	x
163	<i>A. niger</i> IMBC NMTP01	x	x
164	<i>A. niger</i> IMBC NMTP01	x	x
165	<i>A. niger</i> IMBC NMTP01	x	x
166	<i>A. niger</i> IMBC NMTP01	x	x
167	<i>A. niger</i> IMBC NMTP01	x	x
168	<i>A. niger</i> IMBC NMTP01	x	x
169	<i>A. niger</i> IMBC NMTP01	x	x
170	<i>A. niger</i> IMBC NMTP02	x	x
171	<i>A. niger</i> var <i>niger</i> TC 1629	x	soil sample
172	<i>A. niger</i> var <i>niger</i> TC 1629	x	soil sample
173	<i>A. ruber</i> WH4-1	x	coastal sediment
174	<i>A. fumigatus</i>	<i>Erythrophloeum fordii</i> Oliv.	stems
175	<i>A. terreus</i> GZU31-1	<i>Onchidium struma</i>	x
176	<i>A. terreus</i> GZU31-1	<i>Onchidium struma</i>	x
177	<i>A. terreus</i> GZU31-1	<i>Onchidium struma</i>	x
178	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIO Ind09F02	deep-sea sediment	sea
179	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIO Ind09F01	deep-sea sediment	sea
180	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIO Ind09F01	deep-sea sediment	sea
181	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIO Ind09F01	deep-sea sediment	x
182	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIO Ind09F01	deep-sea sediment	sea
183	<i>A. flavipes</i> (MTCC 5220)	<i>Acanthus ilicifolius</i> L.	mangrove plant
184	<i>A. flavipes</i> (MTCC 5220)	<i>Acanthus ilicifolius</i> L.	mangrove plant
185	<i>A. terreus</i>	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i> (L.) Lam.	mangrove plant
186	<i>A. ochraceopetaliformis</i> SCSIO 05702	sponge-derived	x
187	<i>A. ochraceopetaliformis</i> SCSIO 05702	sponge-derived	Antarctic soil
188	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIOW2	x	deep marine sediment
189	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIOW2	x	deep marine sediment
190	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIOW2	x	deep marine sediment
191	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIOW2	x	deep marine sediment
192	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIOW2	x	deep marine sediment
193	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIOW2	x	deep marine sediment
194	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Trichocoleaceae</i> sp.	x

195	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Trichocoleaceae</i> sp	x
196	<i>Aspergillus</i> sp., <i>A. ochraceus</i> (CGMCC- 3.6281)	<i>Trichocoleaceae</i> sp	Antarctic soil
197	<i>Aspergillus</i> sp. ZL0-1b14	green marine algal	x
198	<i>Aspergillus</i> sp. ZL0-1b14	green marine algal	x
199	<i>A. ochraceus</i> (cgmmc 3.6281)	strain collection	x
200	<i>A. ochraceus</i> (cgmmc 3.6281)	strain collection	x
201	<i>A. ochraceus</i> (cgmmc 3.6281)	strain collection	x
202	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Saccharina cichorioides</i> f. <i>sachalinensis</i>	brown alga
203	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Saccharina cichorioides</i> f. <i>sachalinensis</i>	brown alga
204	<i>A. ochraceus</i>	<i>Saccharina cichorioides</i> f. <i>sachalinensis</i>	brown alga
205	<i>A. terreus</i> ML-44	unidentified pacific oyster	fresh gut
206	<i>A. terreus</i> ML-44	unidentified pacific oyster	fresh gut
207	<i>A. terreus</i> ML-44	unidentified pacific oyster	fresh gut
208	<i>A. terreus</i> ML-44	unidentified pacific oyster	fresh gut
209	<i>A. terreus</i> CFCC 81836	<i>Onchidium struma</i>	x
210	<i>A. terreus</i> CFCC 81836	<i>Onchidium struma</i>	x
211	<i>Aspergillus caelatus</i>	<i>Arachis hypogaea</i> L.	Peanut
212	<i>Aspergillus</i> sp. CM9a	<i>Cephalotaxus mannii</i> Hook.f.	stems
213	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIO41002	x	mangrove sediment sample
214	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIO41002	x	mangrove sediment sample
215	<i>Aspergillus</i> sp. SCSIO41002	x	mangrove sediment sample
216	<i>A. terreus</i> Y10	x	sediment of the coast
217	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
218	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L., <i>Phragmites</i> <i>communis</i> Trin.	roots
219	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
220	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
221	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
222	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
223	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
224	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
225	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
226	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
227	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
228	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
229	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
230	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
231	<i>A. fumigatus</i>	<i>Rumex patientia</i> L.	roots
232	<i>Aspergillus</i> sp.	unidentified sponge	x
233	<i>A. fumigatus</i> CY018	<i>Cynodon dactylon</i> (Poaceae)	leaves
234	<i>A. ochraceus</i> LZDX-32-15	x	x
235	<i>Aspergillus</i> sp. GXNU-MA1	<i>Acanthus ilicifolius</i> L.	leaves of a mangrove plant
236	<i>Aspergillus</i> sp. GXNU-MA1	<i>Acanthus ilicifolius</i> L.	leaves of a mangrove plant
237	<i>Aspergillus</i> sp. GXNU-MA1	<i>Acanthus ilicifolius</i> L.	leaves of a mangrove plant
238	<i>Aspergillus</i> sp. GXNU-MA1	<i>Acanthus ilicifolius</i> L.	leaves of a mangrove plant
239	<i>Aspergillus</i> sp. GXNU-MA1	<i>Acanthus ilicifolius</i> L.	leaves of a mangrove plant
240	<i>Aspergillus</i> sp. GXNU-MA1	<i>Acanthus ilicifolius</i> L.	leaves of a mangrove plant
241	<i>Aspergillus</i> sp. GXNU-MA1	<i>Acanthus ilicifolius</i> L.	leaves of a mangrove plant
242	<i>Aspergillus versicolor</i> LZD4403	<i>Pseudopterogorgia</i> sp.	Coral
243	<i>A. ochraceus</i>	x	deep-sea water

ID	ref	inducer	cell type	TARGET	TEST TYPE	VALUE/[CONC.]
1	R1	LPS	BV2	NO	IC50	49.7 μ M
2	R1	LPS	BV2	NO	IC50	11.3 μ M
3	R1	LPS	BV2	NO	IC50	17.1 μ M
4	R1	LPS	BV2	NO	IC50	21.4 μ M
5	R1	LPS	BV2	NO	IC50	58.8 μ M
6	R1	LPS	BV2	NO	IC50	17.8 μ M
7	R2	ND	HMGB1	HMGB1	DOCKING	ND
8	R3	LPS	RAW 264.7	NO	IC50	21 μ M
9	R3	LPS	RAW 264.7	NO	IC50	24 μ M
10	R3	LPS	RAW 264.7	NO	IC50	16 μ M
11	R3	LPS	RAW 264.7	NO	IC50	25 μ M
12	R3	LPS	RAW 264.7	NO	IC50	14 μ M
13	R3	LPS	RAW 264.7	NO	IC50	9,6 μ M
14	R4	LPS	RAW 264.7	NO; TNF- α ; IL-6	IC50	(1 μ M)
15	R4	LPS	RAW 264.7	NO; TNF- α ; IL-6	IC50	(1 μ M)
16	R5	FMLP	human neutrophils	superoxide anion inhibition and elastase release	IC50	5.23; 16.39 (μ M)
17	R5	FMLP	human neutrophils	superoxide anion inhibition and elastase release	IC50	6.11 ; 8.80 (μ M)
18	R5	FMLP	human neutrophils	superoxide anion inhibition and elastase release	IC50	6.0 ; 6.60 (μ M)
19	R6	LPS	RAW 264.7	IL-1 β ; TNF- α ; NO	IC50	35.5; 31.3 ; 33.9 μ M
20	R7	LPS	RAW 264.7	NO; COX-2	IC50	10; 10 μ M
21	R7	LPS	RAW 264.7	COX-2	IC50	(10 μ M)
22	R7	LPS	RAW 264.7	COX-2	IC50	(10 μ M)
23	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF- κ B cells	NO ; NF- κ B	% inhibition	17.4 \pm 2.6% (10 Mm); 74.9 \pm 3.8 % (10 Mm)
24	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF- κ B cells	NO ; NF- κ B	% inhibition	42.2 \pm 2.3% (10 Mm); 68.8 \pm 7.0 % (10 Mm)
25	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF- κ B cells	NO ; NF- κ B	% inhibition	23.4 \pm 3.3% (10 Mm); 52.3 \pm 10.6 % (10 Mm)
26	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF- κ B cells	NO ; NF- κ B	% inhibition	28.6 \pm 7.2% (10 Mm); 23.6 \pm 6.5 % (10 Mm)
27	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF- κ B cells	NO ; NF- κ B	% inhibition	35.2 \pm 7.8% (10 Mm); 31.0 \pm 4.2 % (10 Mm)
28	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF- κ B cells	NO ; NF- κ B	% inhibition	28.2 \pm 3.8% (10 Mm); 28.2 \pm 6.7 % (10 Mm)
29	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF- κ B cells	NO ; NF- κ B	% inhibition	39.4 \pm 2.9% (10 Mm); 31.3 \pm 12.0 % (10 Mm)
30	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF- κ B	NO ; NF- κ B	% inhibition	26.5 \pm 3.2% (10 Mm); 61.7 \pm 0.9 % (10 Mm)

			cells			
31	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	19.5 ± 1.6% (10 Mm); 45.3 ± 7.5 % (10 Mm)
32	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	17.6 ± 5.1% (10 Mm); 63.7 % (10 Mm)
33	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	27.0 ± 3.2% (10 Mm); 56.8 ± 5.7 % (10 Mm)
34	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	23.7 ± 4.8% (10 Mm); 13.0 ± 9.8 % (10 Mm)
35	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	33.3 ± 5.1% (10 Mm); 58.4 ± 6.8 % (10 Mm)
36	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	38.4 ± 5.0% (10 Mm); 24.2 ± 7.9 % (10 Mm)
37	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	19.5 ± 5.0% (10 Mm); 71.0 ± 10 % (10 Mm)
38	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	25.0 ± 6.3% (10 Mm); 73.1 ± 12.7 % (10 Mm)
39	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	27.0 ± 5.5% (10 Mm); 31.6 ± 7.9 % (10 Mm)
40	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	23.3 ± 1.3% (10 Mm); 31.6 ± 4.9 % (10 Mm)
41	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	20.0 ± 1.2% (10 Mm); 75.9 ± 8.3 % (10 Mm)
42	R8	LPS	BV2 cells, SW480-NF-κB cells	NO ; NF-κB	% inhibition	35.3 ± 3.9% (10 Mm); 81.2 ± 8.3 % (10 Mm)
43	*R9	ND	ND	NF-κB, NO, TNF-α, IL-6	Concentration (mg/kg)	(10 and 20 mg/kg)
44	R10	TNFα	NFκB-MDA-MB- 231 cells	NF-κB	IC50	53.2 ± μM
45	R10	TNFα	NFκB-MDA-MB- 231 cells	NF-κB	IC50	19.5 ± 2.5 μM
46	R10	TNFα	NFκB-MDA-MB- 231 cells	NF-κB	IC50	15.7 ± 0.7 μM
47	R10	TNFα	NFκB-MDA-MB- 231 cells	NF-κB	IC50	20.1 ± 5.6μM
48	R10	TNFα	NFκB-MDA-MB- 231 cells	NF-κB	IC50	56.5 ± 8.3μM
49	R10	TNFα	NFκB-MDA-MB- 231 cells	NF-κB	IC50	72.0 ± 28.1μM
50	R10	TNFα	NFκB-MDA-MB- 231 cells	NF-κB	IC50	71.0 ± 7.3μM
51	R10	TNFα	NFκB-MDA-MB- 231 cells	NF-κB	IC50	11.9 ± 2.1μM
52	R10	TNFα	NFκB-MDA-MB- 231 cells	NF-κB	IC50	14.6 ± 1.7μM
53	R11	LPS	RAW 264.7	COX-2	IC50	5.35 μM
54	R11	LPS	RAW 264.7	COX-2	IC50	4.2 μM
55	R11	LPS	RAW 264.7	COX-2	IC50	11.1 μM

56	R12	ND	ND	TNF- α ;IL-1 β ; IFN- γ (NF- Kb)	Concentration μ M	27.5 μ M
57	R12	ND	ND	TNF- α ;IL-1 β ; IFN- γ (NF- Kb)	Concentration μ M	131.5 μ M
58	R13	LPS	Griess reagent medium, L929 mouse fibrosarcoma cell	NO; TNF- α	% inhibition	(25.44 to 82.29%); (9.83 to 51.86%); (25, 50, and 100 μ g /mL)
59	R14	LPS	Macrophages and neutrophils,	IL-1 β ; IFN- γ	Concentration μ M	(10 μ g/ml)
60	R15	LPS	THP-1	TNF- α ; IL-6	IC ₅₀	(28 μ M); (24 μ M)
61	R15	LPS	THP-1	TNF- α ; IL-6	IC ₅₀	(28 μ M); (21 μ M)
62	R15	LPS	THP-1	TNF- α ; IL-6	IC ₅₀	(31 μ M); (26 μ M)
63	R16	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	0.11 μ M
64	R16	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	0.19 μ M
65	R16	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	2.3 μ M
66	R16	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	21 μ M
67	R16	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	22 μ M
68	R16	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	8.2 μ M
69	R16	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	9.9 μ M
70	R16	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	14 μ M
71	R16	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	16 μ M
72	R17	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	22 μ M
73	R17	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	22 μ M
74	R18, R32, R74	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	17.21 \pm 1.27
75	R18	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	45.37 μ M
76	R18	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	26.64 μ M
77	R18	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	16.80 μ M
78	R18	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	44.37 μ M
79	R18	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	20.60 μ M
80	R19	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	8.22 μ M
81	R20	FMLP	human neutrophils	superoxide anion inhibition; elastase release inhibition	% inhibition	26 \pm 12 % and 34 \pm 9% (10 μ M)
82	R20	FMLP	human neutrophils	elastase release	% superoxide anion inhibition	30 \pm 9 % (10 μ M)
83	R20	FMLP	human neutrophils	elastase release	% superoxide anion inhibition	29 \pm 9 % (10 μ M)
84	R20	FMLP	human neutrophils	elastase release	% superoxide anion inhibition	38 \pm 8 % (10 μ M)
85	R20	FMLP	human neutrophils	elastase release	% superoxide anion inhibition	25 \pm 5 % (10 μ M)
86	R21	LPS	RAW 264.7	NO; COX- 2;TNF- α ;IL- 1 β ;IL-6; NF- Kb	IC ₅₀	4; 6 μ M
87	*R22	CuSO ₄	ND	number of macrophages (by a fluorescent microscope)	concentration (μ g/mL)	20 μ g/mL
88	*R22	CuSO ₄	ND	number of	concentration	20 μ g/mL

				macrophages (by a fluorescent microscope)	($\mu\text{g/mL}$)	
89	R23	LPS	BV2 microglia	NO;PGE ₂	IC ₅₀	(20 \pm 1 μM); (23 \pm 1 μM)
90	R23	LPS	BV2 microglia	NO;PGE ₂	IC ₅₀	(33 \pm 1 μM); (34 \pm 2 μM)
91	R23	LPS	BV2 microglia	NO;PGE ₂	IC ₅₀	(24 \pm 1 μM); (27 \pm 1 μM)
92	R23	LPS	BV2 microglia	NO;PGE ₂	IC ₅₀	(21 \pm 1 μM); (21 \pm 1 μM)
93	R23	LPS	BV2 microglia	NO;PGE ₂	IC ₅₀	(28 \pm 1 μM); (30 \pm 2 μM)
94	R23	LPS	BV2 microglia	NO;PGE ₂	IC ₅₀	(65 \pm 1 μM); (61 \pm 3 μM)
95	R24	LPS	BV2	NO; COX ₂	Inhibition (μM ; pg/ml)	5.3 μM ; 500 pg/ml (40 μM)
96	R25	LPS	RAW 264.7	NO; IL-6	Inhibition (μM ; pg/ml)	6.5 μg ; 1.500 pg/ml; (3 $\mu\text{g/mL}$)
97	R25	LPS	RAW 264.7	NO; IL-6	Inhibition (μM ; pg/ml)	6.5 μg ; 1.500 pg/ml; (3 $\mu\text{g/mL}$)
98	R25	LPS	RAW 264.7	NO; IL-6	Inhibition (μM ; pg/ml)	6.5 μg ; 1.500 pg/ml; (3 $\mu\text{g/mL}$)
99	R26	LPS	RAW 264.7	NO; COX-2	IC ₅₀	(5.62 \pm 0.18 μM); (2.59 \pm 0.39 μM)
100	R27	LPS	RAW 264.7	NO; TNF- α ; IL-6	Concentration μM	(20 and 50 $\mu\text{g/mL}$) ; (20 and 40 $\mu\text{g/mL}$) ; (20 and 50 $\mu\text{g/mL}$)
101	R28	LPS	RAW 264.7 ; BV2	iNOS; COX-2; COX; NO	IC ₅₀	20.2; 9.1; 15.7; 2.8 μM
102	R28	LPS	RAW 264.7 ; BV2	iNOS; COX-2; COX; NO	IC ₅₀	28.2; 12.1; 22.0; 4.2 μM
103	R28	LPS	RAW 264.7 ; BV2	iNOS; COX-2; COX; NO	IC ₅₀	25.3; 16.8; 20.5; 9.4 μM
104	R28	LPS	RAW 264.7 ; BV2	iNOS; COX-2; COX; NO	IC ₅₀	80; 80; 69.8; 18.0 μM
105	R28	LPS	RAW 264.7 ; BV2	iNOS; COX-2; COX; NO	IC ₅₀	51.7 ; 66.8 ; 16.7; 49.4 Mm
106	R55	ND	COX (ovine) inhibitor screening kit	COX-2	IC ₅₀	2.4 μM
107	R29	LPS	RAW 264.7	NO;COX-2; TNF- α ; IL-1 β ; NF-Kb	Concentration μM	40 μM
108	R30	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀ (μM)	11.17 \pm 0.54 Mm
109	*R31	CuSO ₄	ND	number of macrophages (by a fluorescent microscope)	concentration ($\mu\text{g/mL}$)	(30, 70, and 120 $\mu\text{g/mL}$)
110	*R31	CuSO ₄	ND	number of macrophages (by a fluorescent microscope)	concentration ($\mu\text{g/mL}$)	(30, 70, and 120 $\mu\text{g/mL}$)
111	*R31	CuSO ₄	ND	number of macrophages (by a fluorescent microscope)	concentration ($\mu\text{g/mL}$)	(30, 70, and 120 $\mu\text{g/mL}$)

112	*R31	CuSO ₄	ND	microscope) number of macrophages (by a fluorescent microscope)	concentration (µg/mL)	(30, 70, and 120 µg/mL)
113	R32	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	1.26 µM
114	R32	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	0.78 µM
115	R33	LPS	RAW 264.7	COX-2	EC ₅₀	18.3 µM
116	R34	LPS	THP-1	TNF-α; IL-6	% inhibition	74.4 and 67.7% (10 µM)
117	R35	LPS	THP-1	IL-6; TNF-α	% inhibition	51.2; 63.1%
118	R35	LPS	THP-1	IL-6; TNF-α	% inhibition	28; 61.5%
119	R35	LPS	THP-1	IL-6; TNF-α	% inhibition	45.9; 84.3; 64.2%
120	R36	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	20 µM
121	R37	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	18.62 µM
122	R37	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	> 40 µM
123	R37	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	24.65 µM
124	R37	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	15.72 µM
125	R37	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	17.45 µM
126	R37	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	29.34 µM
127	R37	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	5.48 µM
128	R37	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	18.62 µM
129	R37	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	26.83 µM
130	R38	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	73 Mm
131	R38	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	73 Mm
132	R39	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	42.3 µM
133	R40	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	4.5 µM
134	R40	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	3.6 µM
135	R41	ND	COX1; COX2; 5- LOX CELL KIT	COX1; COX2; 5-LOX	% inhibition	67.31, 58.11 and 73.21% (10 µM)
136	R41	ND	COX1; COX2; 5- LOX CELL KIT	COX1; COX2; 5-LOX	% inhibition	67.31, 58.11 and 73.21% (10 µM)
137	R41	ND	COX1; COX2; 5- LOX CELL KIT	COX1; COX2; 5-LOX	% inhibition	67.31, 58.11 and 73.21% (10 µM)
138	R41	ND	COX1; COX2; 5- LOX CELL KIT	COX1; COX2; 5-LOX	% inhibition	67.31, 58.11 and 73.21% (10 µM)
139	R41	ND	COX1; COX2; 5- LOX CELL KIT	COX1; COX2; 5-LOX	% inhibition	67.31, 58.11 and 73.21% (10 µM)
140	R41	ND	COX1; COX2; 5- LOX CELL KIT	COX1; COX2; 5-LOX	% inhibition	67.31, 58.11 and 73.21% (10 µM)
141	R41	ND	COX1; COX2; 5- LOX CELL KIT	COX1; COX2; 5-LOX	% inhibition	67.31, 58.11 and 73.21% (10 µM)
142	R42	-	-	CB1	% affinity	71.2%
143	R42	-	-	CB1	% affinity	80.50%
144	R42	-	-	CB1	% affinity	69.80%
145	R42	-	-	CB1	% affinity	66.10%
146	R43	-	-	-	-	-
147	R44	LPS	BV2	NO	% inhibition	0.3 ± 1.2 (10 µM)
148	R45	LPS	BV2	NO	% inhibition	47.0 ± 1.8 ; % (10 µM)
149	R45	LPS	BV2	NO	% inhibition	46.4 ± 2.0% (10 µM)
150	R45	LPS	BV2	NO	% inhibition	56.8 ± 1.7 % (10 µM)
151	R45	LPS	BV2	NO	% inhibition	45.4 ± 2.9 % (10 µM)
152	R45	LPS	BV2	NO	% inhibition	52.4 ± 1.7 % (10 µM)
153	R46	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	(19 µg/MI)

154	R47	LPS	RAW 264.7	IL-1 β ; TNF- α ; NO	IC ₅₀	35.23; 42.57; 38.15 μ M
155	R47	LPS	RAW 264.7	IL-1 β ; TNF- α ; NO	IC ₅₀	17.89; 23.53; 21.45 μ m
156	R47	LPS	RAW 264.7	IL-1 β ; TNF- α ; NO	IC ₅₀	16.21; 20.45; 19.34 μ M
157	R47	LPS	RAW 264.7	IL-1 β ; TNF- α ; NO	IC ₅₀	21.16 ; 19.83; 16.78 μ M
158	R48	anti- CD3/C D28 mAbs	Mouse splenocytes	IFN- γ , TNF- α	inhibition (pg/mL)	0.2 ; 0.2 pg/mL (10 μ M)
159	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	41.3 a 56 μ M
160	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	41.3 a 56 μ M
161	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	14.5 a 24 μ M
162	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	14.5 a 24 μ M
163	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	14.5 a 24 μ M
164	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	41.3 a 56 μ M
165	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	14.5 a 24 μ M
166	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	7.4 μ M
167	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	14.5 a 24 μ M
168	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	84.4 μ M
169	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	21 μ M
170	R49	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	>100 μ M
171	R50	ND	ND	IFN- γ	IC ₅₀	7.5 μ M
172	R50	ND	ND	IFN- γ	IC ₅₀	>100 μ M
173	R51	LPS	RAW 264.7	NO	% inhibition	53.2 \pm 3.8% (30 mM)
174	R52	LPS	C57BL6/J mouse macrophages	NO	IC ₅₀	5.20 μ M
175	R53	LPS	BV2	NO;PGE ₂	IC ₅₀	5.62 \pm 0.18;2.59 \pm 0.39 μ M
176	R54	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	17.8 \pm 1.0 μ M
177	R54	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	14.1 \pm 0.8 μ M
178	R54	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	13.4 \pm 1.6 μ M
179	R55	ND	COX (ovine) inhibitor screening kit	COX-2	IC ₅₀	10.6 μ M
180	R55	ND	COX (ovine) inhibitor screening kit	COX-2	IC ₅₀	10.6 μ M
181	R55	ND	COX (ovine) inhibitor screening kit	COX-2	IC ₅₀	7.1 μ M
182	R55	ND	COX (ovine) inhibitor screening kit	COX-2	IC ₅₀	2.4 μ M
183	R55	ND	COX (ovine) inhibitor screening kit	COX-2	IC ₅₀	7.1 μ M
184	R56	LPS	THP-1	IL-6 ;TNF- α	IC ₅₀	12.03 μ M and 143.29 μ M
185	R56	LPS	THP-1	IL-6 ;TNF- α	IC ₅₀	8.5 μ M and 15.76 μ M
186	R57	LPS	THP-1	IL-6	IC ₅₀	12.1 μ g/mL.
187	R58	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	14.6 \pm 0.5 μ M
1888	R58	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	18.3 \pm 1.7 μ M
189	R59	LPS	RAW 264.7	NO; INF- γ	concentration (μ M)	(12.5-100 μ M)
190	R59	LPS	RAW 264.7	NO; INF- γ	concentration	(12.5-100 μ M)

191	R59	LPS	RAW 264.7	NO; INF- γ	(μ M) concentration (μ M)	(12.5-100 μ M)
192	R59	LPS	RAW 264.7	NO; INF- γ	concentration (μ M)	(12.5-100 μ M)
193	R60	LPS	microglial cell	NO ; IL-6 ;NF- κ B	Concentration μ M	(10 to 100 μ M); (50; 100 μ M)
194	R60	LPS	microglial cell	NO ; IL-6 ;NF- κ B	Concentration μ M	(10 to 100 μ M); (50; 100 μ M)
195	R61	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	46.02 μ M
196	R61	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	22.14 μ M
197	R61, R64	LPS	RAW 264.7	NO; TNF- α	IC ₅₀ /% inhibition	49.85 μ M/40.6% (20 uM)
198	R62	LPS	RAW 264.7	IL-6; IL-1 β	% inhibition	43 \pm 2; 42 \pm 2 % (40 μ M)
199	R62	LPS	RAW 264.7	IL-6; IL-1 β	% inhibition	69 \pm 2; 47 \pm 4 % (80 μ M)
200	R64	LPS	RAW 264.7	TNF- α ;IL-1 β	% inhibition	41.6; 49,2% (20 μ M)
201	R64	LPS	RAW 264.7	TNF- α ;IL-1 β	% inhibition	32.6 ; 46.5% (20 μ M)
202	R64	LPS	RAW 264.7	TNF- α ;IL-1 β	% inhibition	34.5; 38,9% (20 μ M)
203	R63	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	> 40uM
204	R63	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	> 40uM
205	R63	LPS	RAW 264.7	NO; NF-Kb	IC ₅₀ /% inhibition	6.0 \pm 0.5 μ M; 50%
206	R65	LPS	RAW 264.7	NO	% inhibition	34.00%
207	R65	LPS	RAW 264.7	NO	% inhibition	22.50%
208	R65	LPS	RAW 264.7	NO	% inhibition	23.50%
209	R65	LPS	RAW 264.7	NO	% inhibition	30.20%
210	R66	LPS	RAW 264.7	NO	% inhibition	47.7% (40 μ M)
211	R66	LPS	RAW 264.7	NO	% inhibition	37.3% (40 μ M)
212	R67	ND	mouse fibroblast cell line L929 COX (ovine)	TNF- α	EC ₅₀ /% inhibition	(8.7 μ M)/(63.9%)
213	R68	ND	inhibitor screening kit COX (ovine)	COX-2	IC ₅₀	2.7 Mm
214	R68	ND	inhibitor screening kit COX (ovine)	COX-2	IC ₅₀	42.0 μ M
215	R68	ND	inhibitor screening kit	COX-2	IC ₅₀	58.6 μ M
216	R69	LPS	BV2	TNF- α	IC ₅₀	7.6 μ g/mL.
217	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	400 pg/ml (10 uM)
218	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	450 pg/ml (10 uM)
219	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	365 pg/ml (10 uM)
220	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	485 pg/ml (10 uM)
221	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	400 pg/ml (10 uM)
222	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	400 pg/ml (10 uM)
223	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	400 pg/ml (10 uM)
224	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	400 pg/ml (10 uM)
225	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition	400 pg/ml (10 uM)

226	R70	ND	mesangial cells	IL-6	(pg/mL) inhibition (pg/mL)	425 pg/ml (10 uM)
227	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	475 pg/ml (10 uM)
228	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	415 pg/ml (10 uM)
229	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	375 pg/ml (10 uM)
230	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	415 pg/ml (10 uM)
231	R70	ND	mesangial cells	IL-6	inhibition (pg/mL)	425 pg/ml (10 uM)
232	R71	LPS	BV2 microglia	NO;PGE ₂ ;IL-1b; NF-κB	IC ₅₀	(49.70, 51.3, 40.36 μM) ; (10-100 uM)
233	R72	LPS	RAW264.7	TNF-α;IL-1β;IL-6;IFN-γ	concentration (uM)	40 uM
234	R73	LPS	BV-2 Ç SW480-NF-kB cells	NO; TNF-α; IL-1β; NF-Kb	IC ₅₀	(8.7 ± 1.3 μM); (<100 pg/mL); (20 uM)
235	R74	LPS	BV2	NO	%inhibition	(<50 μM)
236	R75	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	16.15 μM
237	R75	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	17.12 μM
238	R75	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	20.43 μM
239	R75	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	27.08 μM
240	R75	LPS	RAW 264.7	NO	IC ₅₀	18.03 μM
241	R76	LPS	RAW264.7	NO; TNF-α; IL-6	Inhibition (NmoL/L);(Ng/mL)	17.5 NmoL/L ;20.0;3.8 Ng/mL (10 uM)
242	R77	LPS	BV2	NO	% inhibition	44.87% ± 1.54%)

*Estudos *in vivo* incluídos

FONTE: Do autor

ANEXO E - Países de obtenção, estudos e localizações geográficas naturais de *Aspergillus* sp.

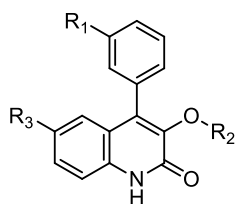
Source	Location - country	Ref
Volcanic soil sample of the Changbai Mountain	China	R1
Cultivated strain	France	R2
<i>Kandelia candel</i> plant	China	R3
Unidentified soft coral	China sea	R4
Marine sediment	China	R5
<i>Anoectochilus roxburghii</i> leaves	China	R6
Deep-sea south china	Chinese sea - China	R7
Marine sponge <i>Xestospongia testudinaria</i>	Chinese sea - China	R8
<i>Carthamus lanatus</i> roots	Saudi Arabia	R9
Red sea	Germany	R10
Marine alga <i>Scagassum</i> sp.	Chinese sea - China	R11
Strain culture collection (IBWF e.V.)	Germany	R12
Cultivated strain	Brazil	R13
Commercial	Netherlands	R14
Marine sponge <i>Phakellia fusca</i>	Chinese sea - China	R15
Marine sponge <i>Phakellia fusca</i>	Chinese sea - China	R16
Sponge <i>Phakellia fusca</i>	Chinese sea - China	R17
<i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i> (Mast.) aerial parts	China	R18
Mangrove <i>Acanthus ilicifolius</i> L.	China	R19
<i>Anthurium brownii</i> leaves	China	R20
Marine red algae <i>Hypnea saidana</i>	Korea sea - Korea	R21
Sponge <i>Phakellia fusca</i>	Chinese sea - China	R22
Red macroalgae	Ross sea - Korea	R23
Strain repository	Korea	R24
Soybean seeds cultured	Korea	R25
Soybean derivate	Korea	R26
Forest Soil Sample	Idian	R27
Ross sea Antarctic marine organism	Korea	R28
Cultivated strain	Korea	R29
Mud	Chinese sea - China	R30
Deep-sea sediment-derived	Indian ocean - China	R31
<i>S. maritima</i> L leaves	China	R32

Hot spring zones	Taiwan	R33
Sponge <i>Reniochalina</i> sp	Chinese sea - China	R34
Sponge <i>Reniochalina</i> sp	Chinese sea - China	R35
Coral <i>Sarcophyton subviride</i>	Chinese sea - China	R36
Coral <i>Sarcophyton subviride</i>	Chinese sea - China	R37
Sponge <i>Stelletta</i> sp	Korea sea - Korea	R38
Mangrove <i>Kandelia obovata</i>	China	R39
Mangrove of Thailand	China	R40
<i>Elaeocarpus floribundus</i> Blume	Australia	R41
<i>Pulicaria crispa</i> (Asteraceae) roots	Saudi arabia	R42
Strain repository	Japan	R43
Deep ocean	South Atlantic ocean - China	R44
Deep ocean	South Atlantic ocean - China	R45
<i>Arachis hypogaea</i> L.	USA	R46
<i>Tripterygium wilfordii</i> root	China	R47
Coral <i>Sarcophyton subviride</i>	China	R48
Peanut-associated fungal strain	Vietnam	R49
Soil sample	Japan	R50
Coastal sediment	China	R51
<i>Erythrophloeum fordii</i> Oliv stems	China	R52
Marine organism	Korea	R53
Marine-derived	China	R54
Deep Ocean	China	R55
Mangrove plant <i>Acanthus ilicifolius</i>	India	R56
Mangrove plant <i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	Sri Lanka	R57
Soil sample	Antarctic - China	R58
Deep marine sediment sample	Chinese sea - China	R59
Deep marine-derived fungal strain	Chinese sea - China	R60
<i>Trichocoleaceae</i> sp.	China	R61
Green marine algal	Chinese sea - China	R62
Mycobiota of the brown alga	Chinese sea - China	R63
Soil sample	China	R64
Pacific oyster	China	R65
China Forestry Culture Collection Center	China	R66
Leaves of <i>Cephalotaxus mannii</i>	China	R67

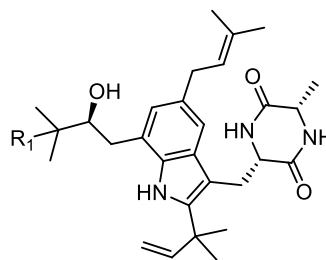
Mangrove soil sample	China	R68
Sediment coastal sample	China	R69
<i>Trifolium repens</i> leaves	China	R70
unidentified sponge Ross sea - Antarctic	Korea	R71
Leaf of <i>Cynodon dactylon</i> (Poaceae)	China	R72
Gorgonian coral (LZDX-32)	Chinese sea - China	R73
Coral <i>Porites pukoensis</i>	Chinese sea - China	R74
mangrove <i>Acanthus ilicifolius</i> L leaf	China	R75
Gorgonian (<i>Pseudopterogorgia</i> sp.)	Chinese sea - China	R76
Northeastern Pacific	Chinese sea - China	R77

FONTE: Do autor

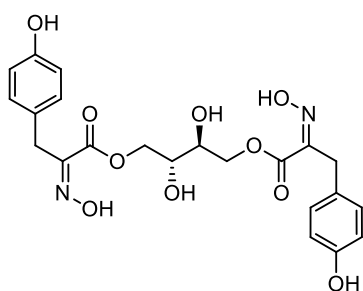
ANEXO F- Padrões químicos de alcalóides.



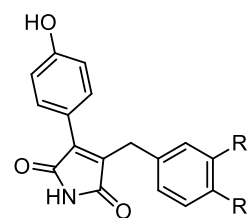
3-O-methylviridicatin $R_1^- \text{OH}$ $R_2^- \text{CH}_3$ $R_3^- \text{H}$
 6-hydroxy-3-methoxyviridicatin $R_1^- \text{H}$ $R_2^- \text{CH}_3$ $R_3^- \text{OH}$
 viridicatin $R_1^- \text{OH}$ $R_2^- \text{H}$ $R_3^- \text{H}$



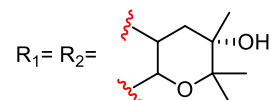
5-prenyl-dihydrorubrumazine A $R_1^- \text{OCH}_3$
 5-prenyl-dihydrovariecolorin F $R_1^- \text{Cl}$



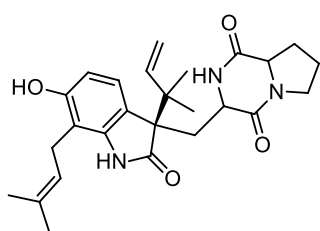
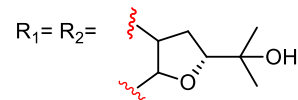
aspergillusol A



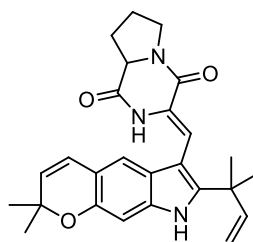
asperimide C



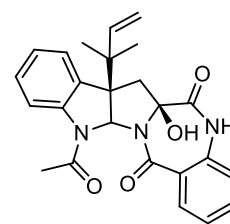
asperimide D



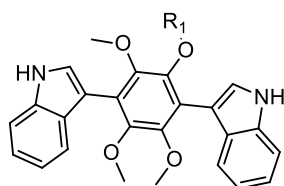
asperochramide A



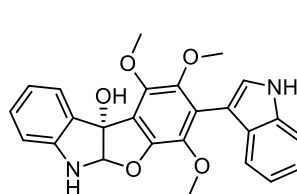
aspersiamide G



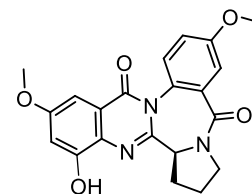
asterelenin



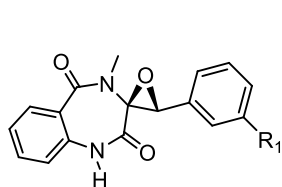
asterriquinol E $R_1^- \text{H}$
 asterriquinol D methyl ether $R_1^- \text{CH}_3$



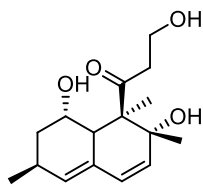
asterriquinol F



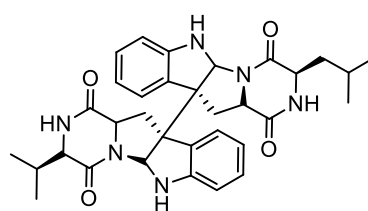
circumdatin D



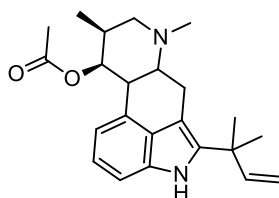
cyclophenol R_1 -OH
cyclophenin R_1 -H



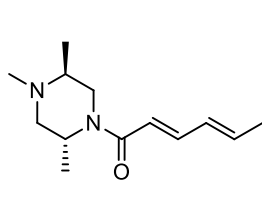
decumbenone A



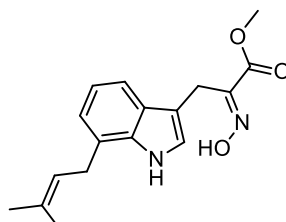
diketopiperazine dimer



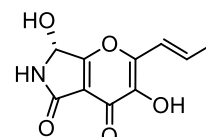
fumigaclavine C



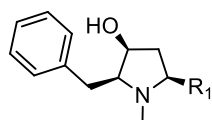
nigragillin



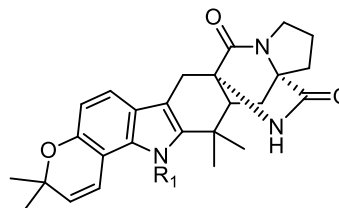
luteoride E



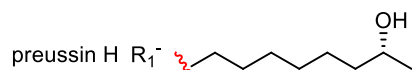
pyranonigrin A



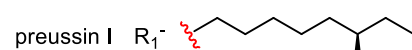
preussin C R_1 -(CH₂)₂COOH
preussin D R_1 -(CH₂)₄COOH
preussin E R_1 -(CH₂)₅COOH
preussin F R_1 -(CH₂)₆COOH
preussin G R_1 -(CH₂)₈COOH



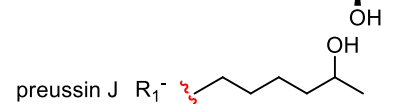
stephacidin A R_1 -H
taichunamide DR₁-SO₂CH₃



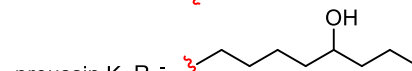
preussin H R_1 -



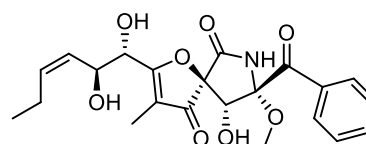
preussin I R_1 -



preussin J R_1 -



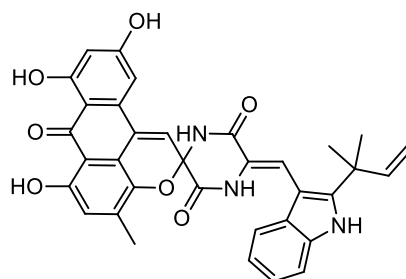
preussin K R_1 -



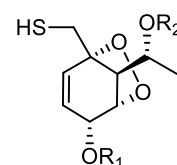
pseurotin A



varioxepine B



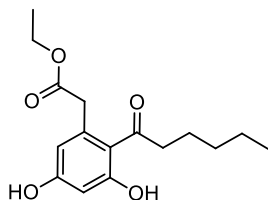
variecolortide B



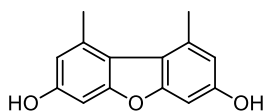
varicuothiol A R_1 -COCH₃ R_2 -H
varicuothiol B R_1 -H R_2 -COCH₃

FONTE: Do autor

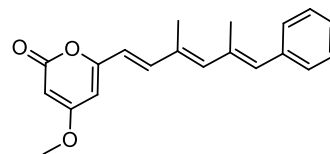
ANEXO G - Padrões químicos de policetídeos.



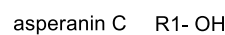
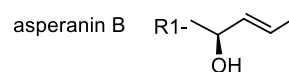
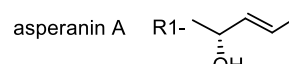
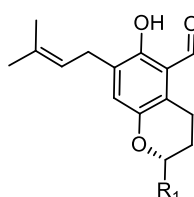
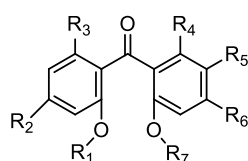
14,15-seco-curcularin



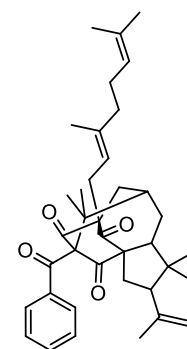
1,9-dimethyldibenzo[b,d]furan-3,7-diol



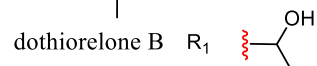
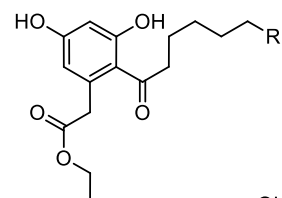
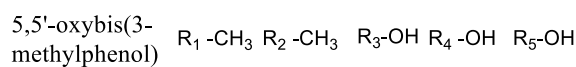
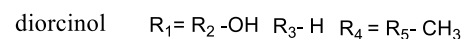
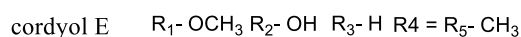
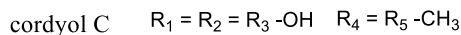
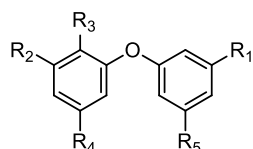
asniipyron B

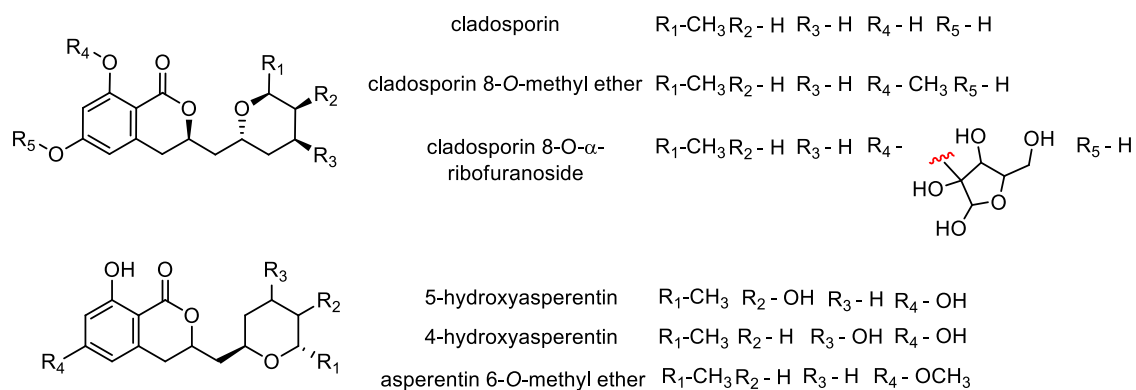
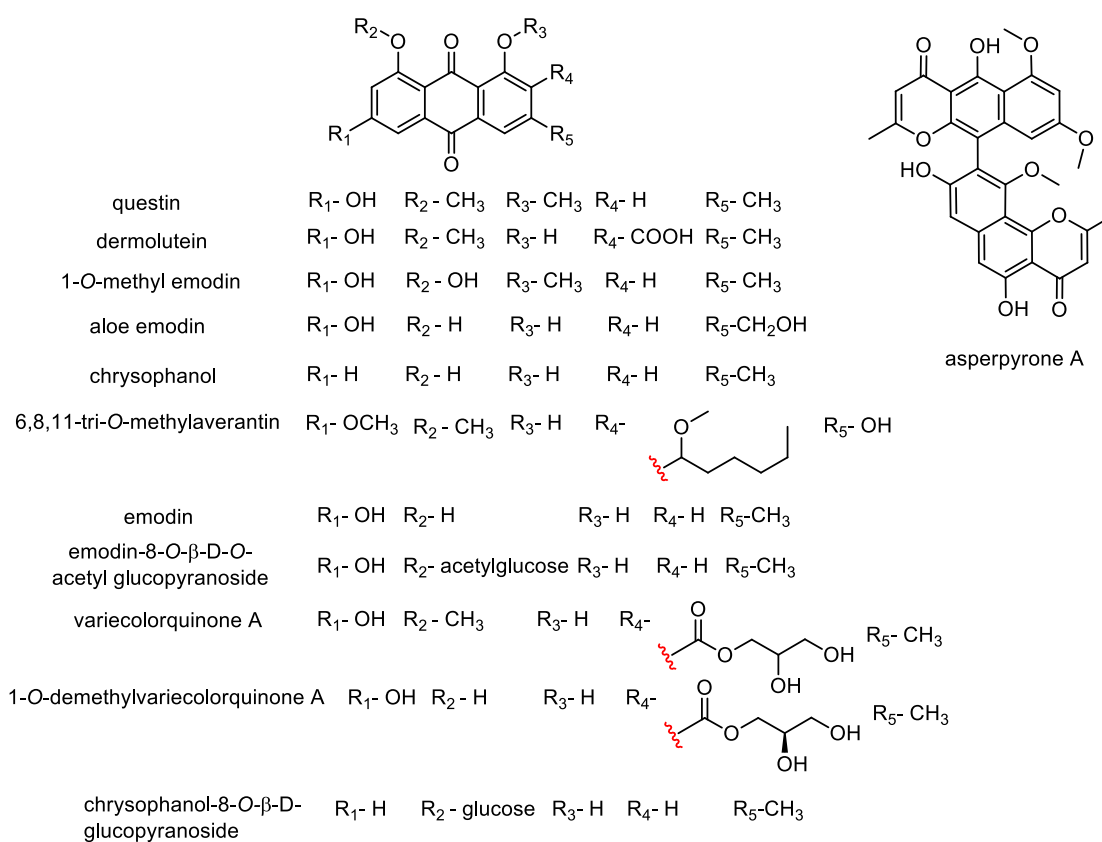
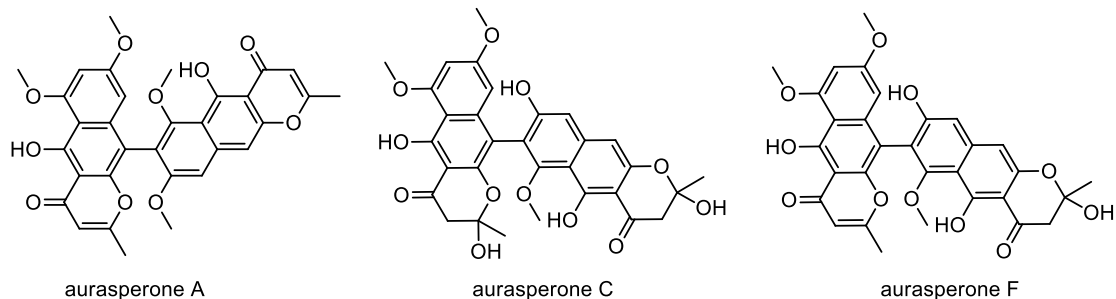


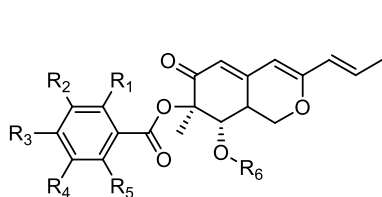
1,2 seco-trypacidin	$R_1=R_2=R_7-CH_3$ $R_3=R_6-OH$ $R_4-COOCH_3$ R_5-H
3-de- <i>O</i> -methylsulochrin	$R_1=R_6-CH_3$ R_2-OCH_3 $R_3-COOCH_3$ R_4-OH $R_5=R_7-H$
5-methoxysulochrin	$R_1=R_6-CH_3$ R_2-OCH_3 $R_3-COOCH_3$ R_4-OH $R_5=R_7-H$
asperfumin	$R_1=R_2=R_7-CH_3$ $R_3=R_6-OH$ $R_4-COOCH_3$ R_5-OCH_3
eurobenzophenone A	$R_1=R_6=R_7-H$ $R_2=R_4-OH$ R_3-COOH R_5-
eurobenzophenone B	$R_1=R_6=R_7-H$ $R_2=R_4-OH$ $R_3-COOCH_3$ R_5-
eurobenzophenone C	$R_1=R_7-H$ R_2-OH R_3-COOH R_4-OH R_5-H R_6-CH_3
sulochrin	R_1-CH_3 R_2-OH $R_3-COOCH_3$ R_4-OH $R_5=R_7-H$ R_6-CH_3
14-de- <i>O</i> -methyl-5-methoxysulochrin	$R_1=R_6-CH_3$ R_2-OCH_3 R_3-COOH R_4-OH $R_5=R_7-H$
14- <i>O</i> -demethylsulochrin	$R_1=R_5=R_7-H$ R_2-OCH_3 R_3-COOH R_4-OH R_6-CH_3



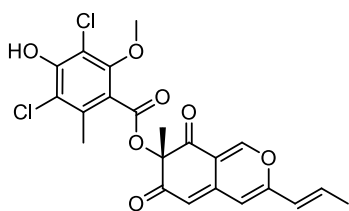
cowabenzophenone A



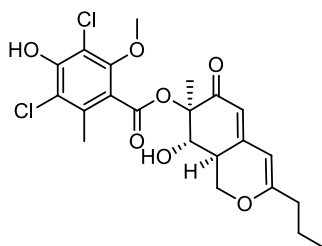




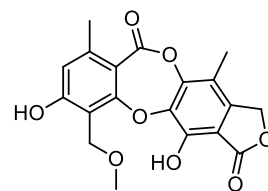
- falconensin A R_1 -OCH₃ R_2 -Cl R_3 -OCH₃ R_4 -Cl R_5 -CH₃ R_6 -H
 falconensin I R_1 -OCH₃ R_2 -H R_3 -OH R_4 -H R_5 -CH₃ R_6 -H
 falconensin M R_1 -OCH₃ R_2 -Cl R_3 -OH R_4 -Cl R_5 -CH₃ R_6 -H
 falconensin O R_1 -OCH₃ R_2 -Cl R_3 -OH R_4 -Cl R_5 -CH₃ R_6 -(CO)CH₃
 falconensin Q R_1 -OCH₃ R_2 -H R_3 -OH R_4 -Br R_5 -CH₃ R_6 -H
 falconensin R R_1 -OCH₃ R_2 -H R_3 -OCH₃ R_4 -Br R_5 -CH₃ R_6 -H
 falconensin S R_1 -OCH₃ R_2 -H R_3 -OH R_4 -H R_5 -CH₃ R_6 -(CO)CH₃



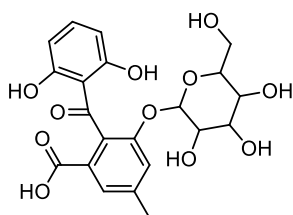
falconensin H



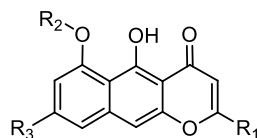
falconensin N



guanxidone A

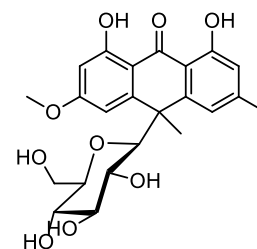


nepalenside A



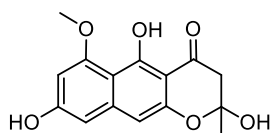
- nigerasperone A R_1 -CH₂-OH R_2 -CH₃ R_3 -OCH₃

- rubrofusarin B R_1 -CH₃ R_2 -CH₃ R_3 -OCH₃

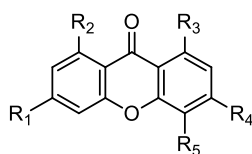


patientoside A 10R

patientoside B 10S



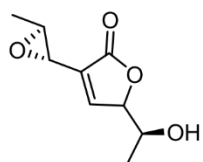
fonsecin



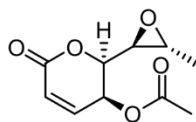
- calyxanthone R_1 -OH R_2 -COOH R_3 -OH R_4 -CH₃ R_5 -H
 euroanthone A R_1 -OH R_2 -OH R_3 -COOCH₃ R_4 -CH₃ R_5 -H
 euroanthone B R_1 -OH R_2 -OH R_3 -COOH R_4 -CH₃ R_5 -H
 physcion R_1 -OCH₃ R_2 = R_3 -OH R_4 -CH₃ R_5 -H
 yicathin A R_1 -OCH₃ R_2 -OH R_3 -COOCH₃ R_4 -CH₃ R_5 -H
 yicathin B R_1 -COOCH₃ R_2 -OCH₃ R_3 -OH R_4 -CH₃ R_5 -H
 yicathin C R_1 -COOH R_2 -OCH₃ R_3 -OH R_4 -CH₃ R_5 -H

FONTE: Do autor

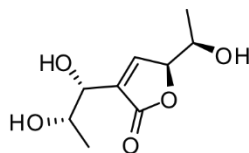
ANEXO H - Padrões químicos de terpenóides.



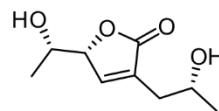
asperlactone



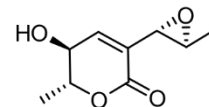
asperlin



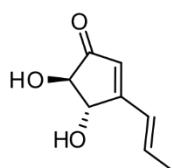
aspilactonol B



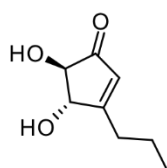
aspilactonol E



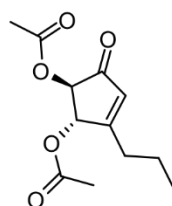
aspyrone



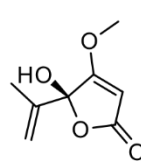
terrein



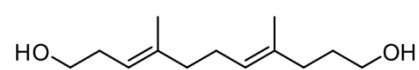
dihydroterrein



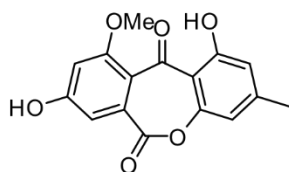
dihydroterrein acetate



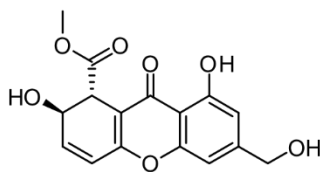
peniciliic acid



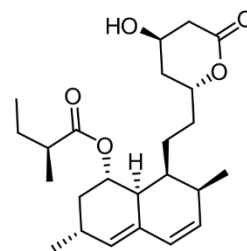
(3E,7E)-4,8-dimethyl-undecane-3,7-diene-1,11-diol



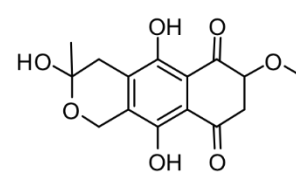
1-methoxy-14-dehydroxywentiquinone C



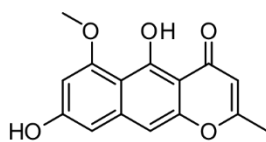
AGI-B4



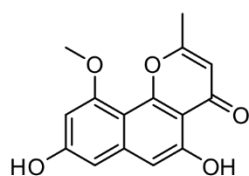
lovastatin



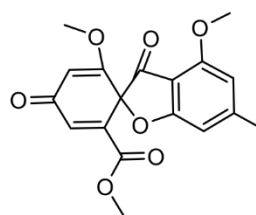
fusarubin



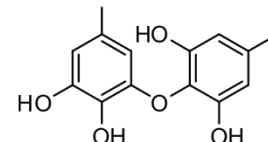
TMC-256A1



TMC-256C1

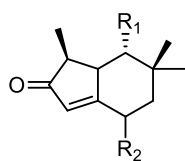
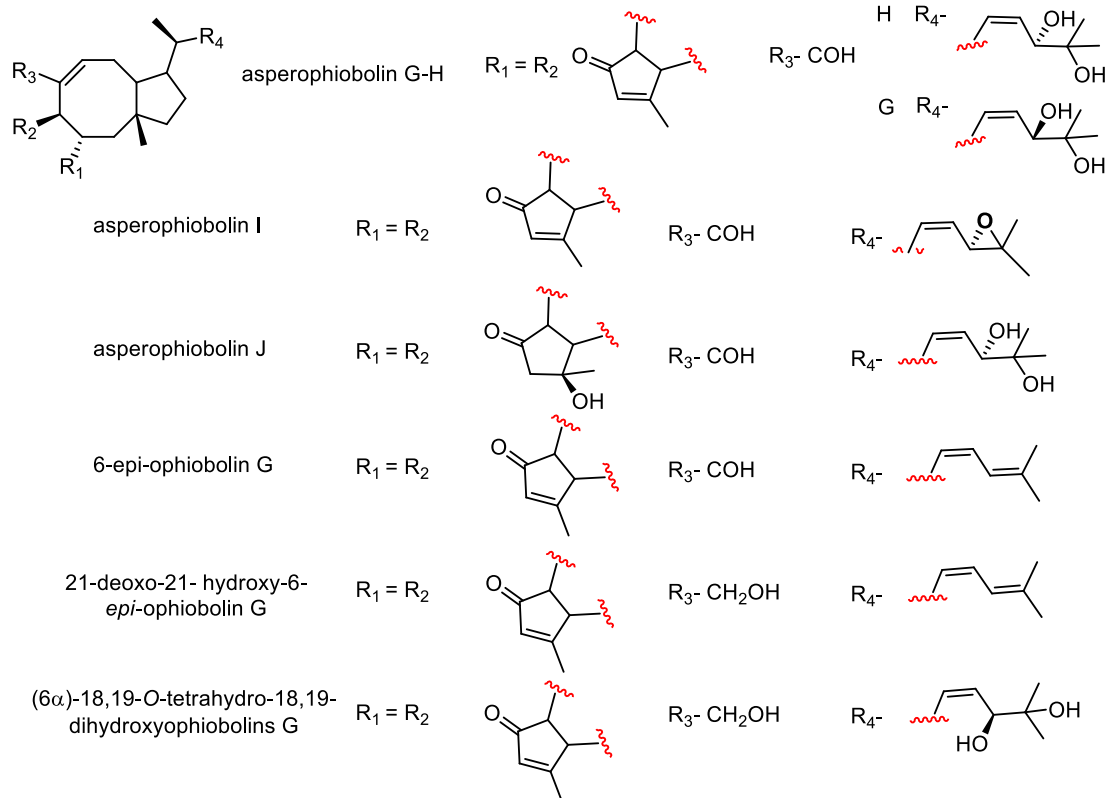


trypacidin

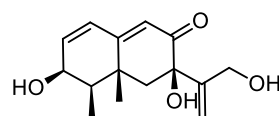


violaceol II

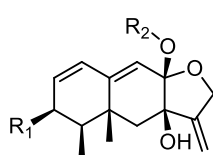
FONTE: Do autor



brasilanone A $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{CH}_2(\text{CH}_3)_2\text{OH}$
brasilanone E $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{C}(\text{CH}_3)_2$



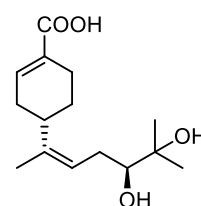
dihydrobipolaroxin



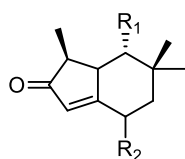
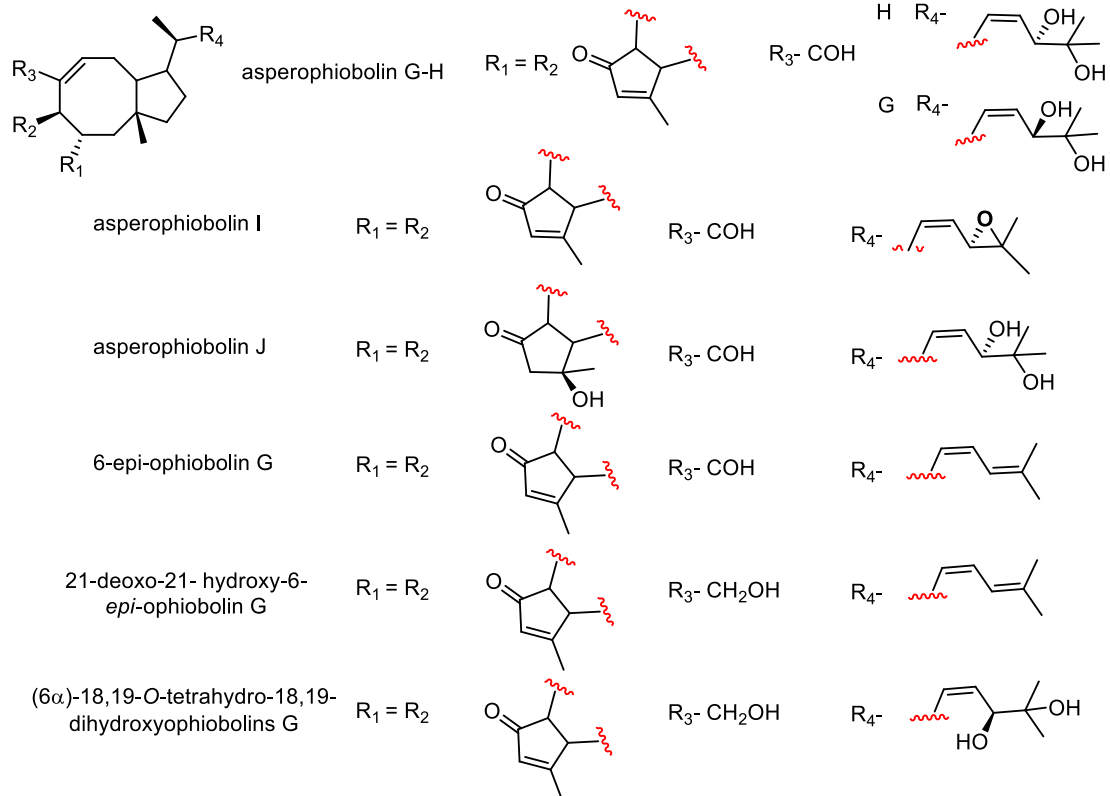
dihydrobipolaroxin B $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{CH}_3$

dihydrobipolaroxin C $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{diol}$

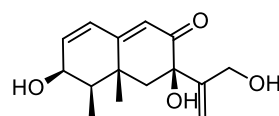
dihydrobipolaroxin D $R_1 = \text{=O}$ $R_2 = \text{H}$



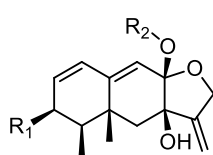
gxsespene A



brasilanone A R_1 -H R_2 -CH₂(CH₃)₂OH
brasilanone E R_1 -OH R_2 -C(CH₃)₂



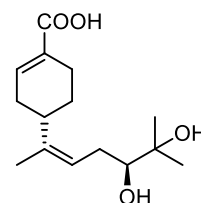
dihydrobipolaroxin



dihydrobipolaroxin B R_1 -OH R_2 -CH₃

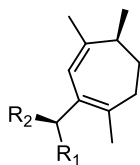
dihydrobipolaroxin C R_1 -OH R_2 -

dihydrobipolaroxin D R_1 -=O R_2 -H



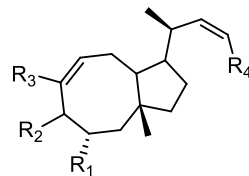
gxsespene A

FONTE: Do autor



ochracene B $R_1^- (CH_2)_3OH$ $R_2^- COOH$

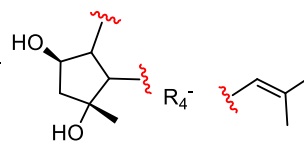
ochracene C $R_1^- (CH_2)_2COOH$ $R_2^- COOH$



ophiobolin U

$R_1 = R_2^-$

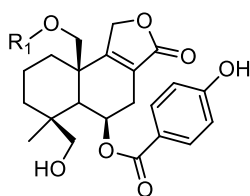
$R_3^- COH$



ophiobolin Q

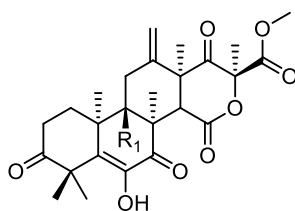
$R_1 = R_2^-$

$R_3^- COH$



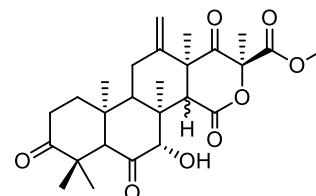
parasiticolide A $R_1^- H$

parasiticolide B $R_1^- (CO)CH_3$



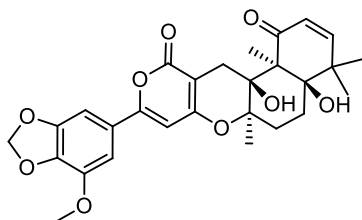
terretonin $R_1^- OH$

terretonin A $R_1^- H$

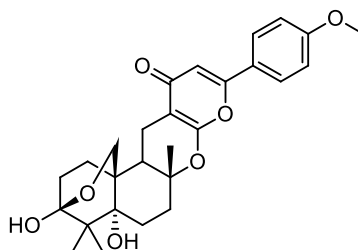


terretonin D 14-aH

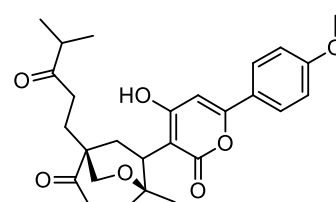
terretonin D1 14-bH



territrem A



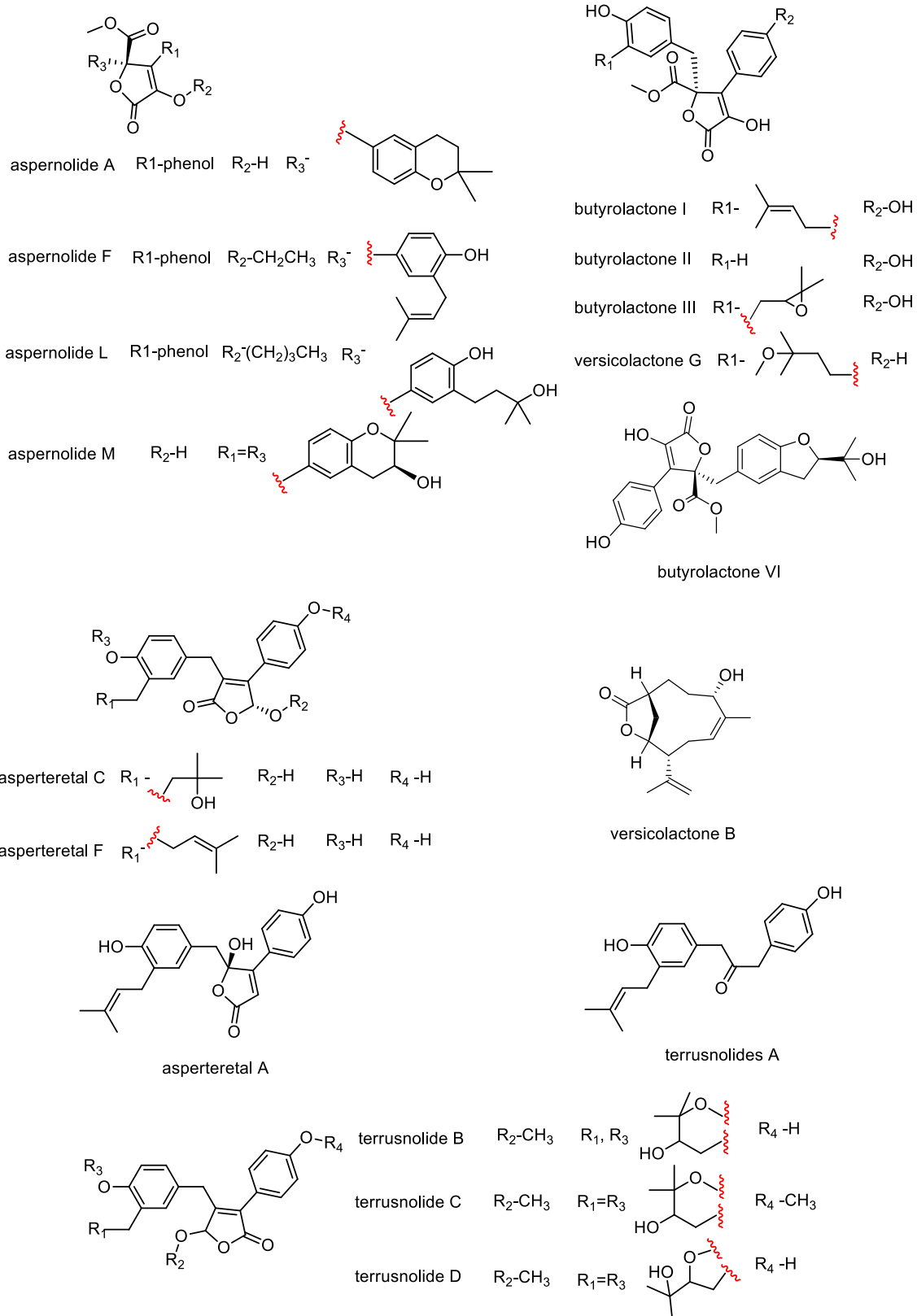
yaminterritrem B



yaminterritrem A

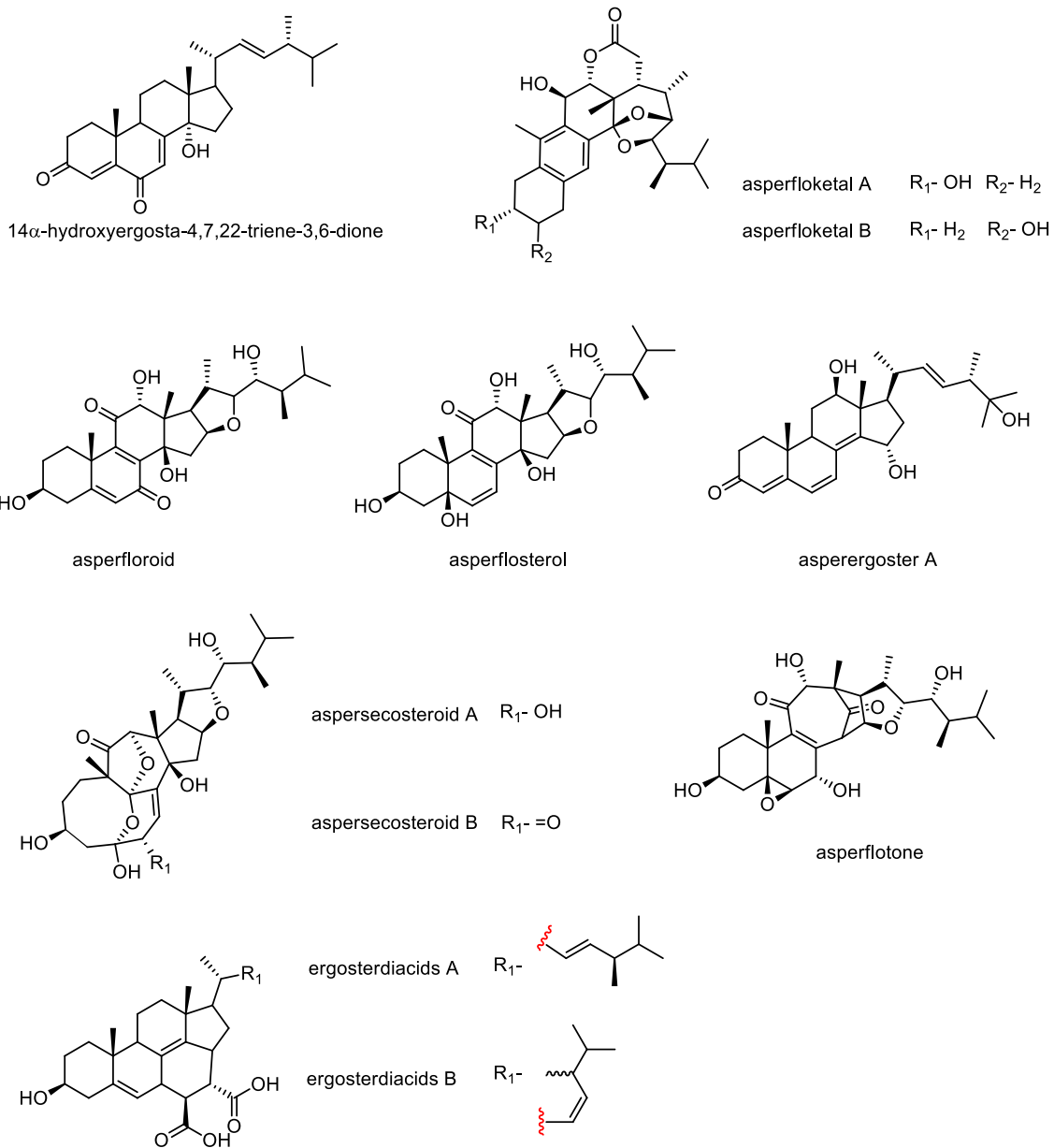
FONTE: Do autor

ANEXO I - Padrões químicos de butenolídeos.



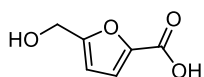
FONTE: Do autor

ANEXO J - Outros padrões químicos de metabólitos secundários (esteróides)

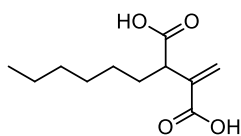


FONTE: Do autor

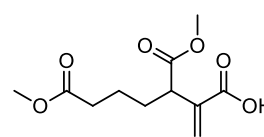
ANEXO L - Outros padrões químicos de metabólitos secundários (ácidos orgânicos e fenólicos).



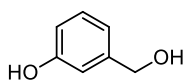
5-(hydroxymethyl)-2-furancarboxylic acid



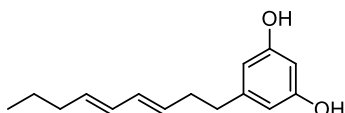
hexylitaconic acid



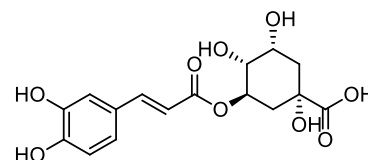
tensuic acid



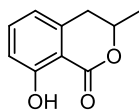
3-hydroxybenzyl alcohol



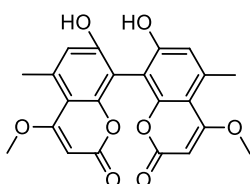
5-[(3E,5E)-3,5-nonadienyl]-1,3-benzenediol



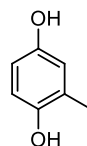
chlorogenic acid



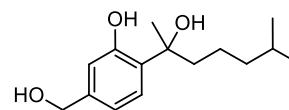
mellein



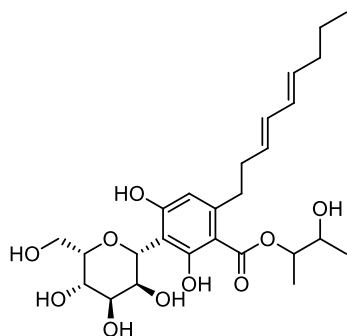
orlandin



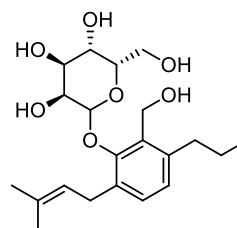
toluhydroquinone



sydonol

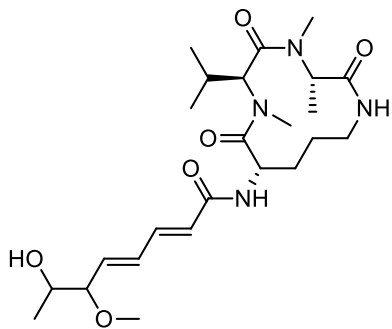


carnemycin H

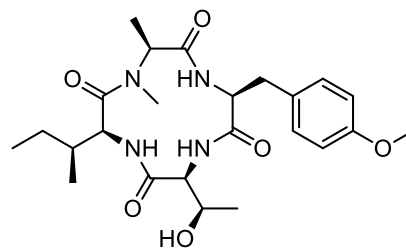


hydroxymethyl-6-(3-methylbut-2-en-1-yl)-3-propylphenyl-O-β-D-glucoside

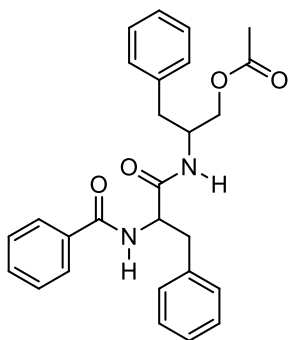
FONTE: Do autor



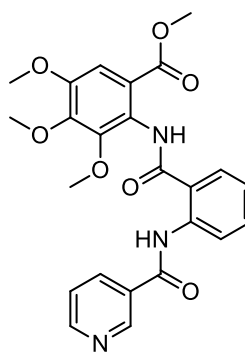
sclerotiotide L



violaceomide A



aurantiamide acetate

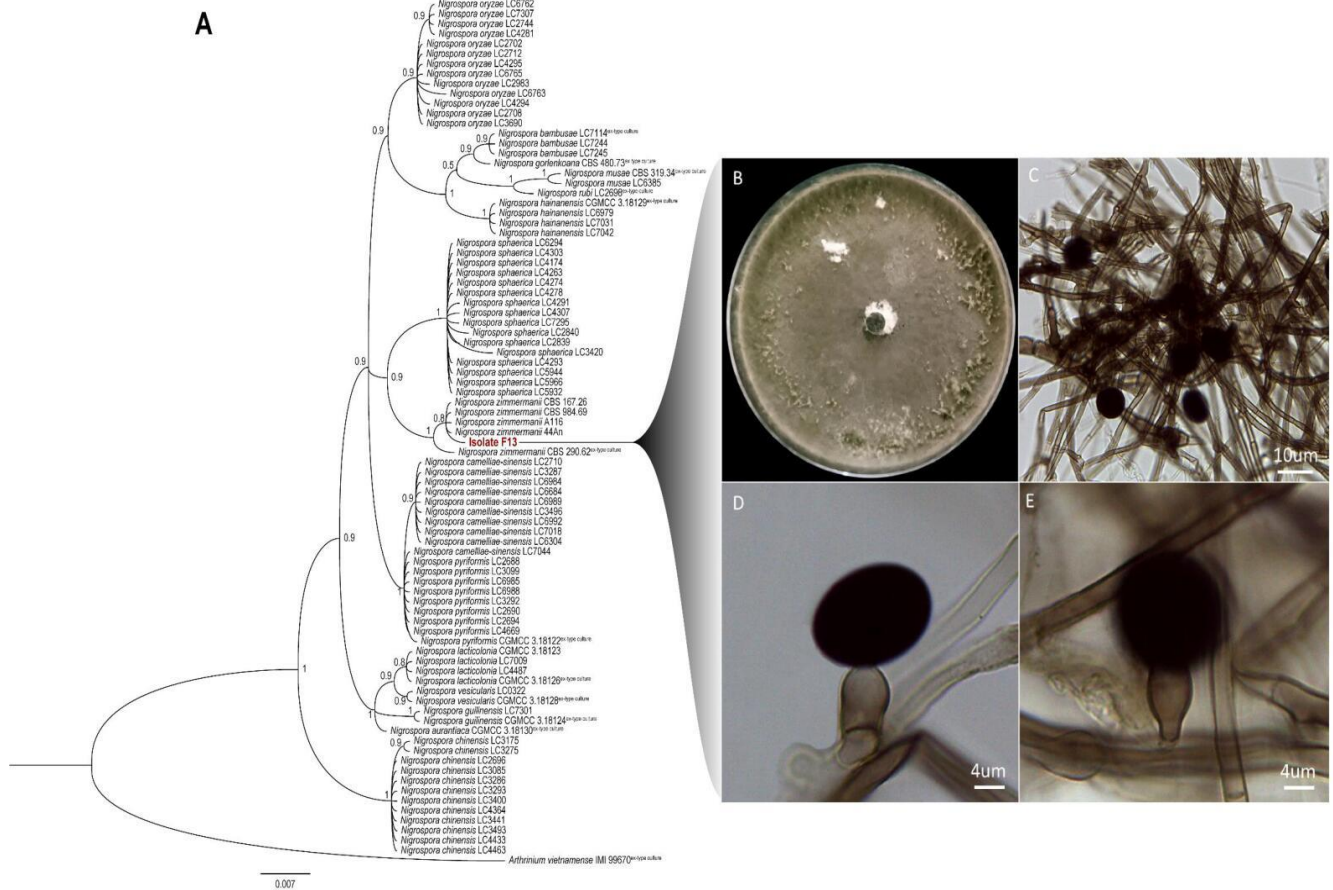


methyl 3,4,5-trimethoxy-2-(2-(nicotinamido)benzamido)benzoate

FONTE: Do autor

ANEXO M - Árvore filogenética e características morfológicas do isolado FPD13 (em vermelho na árvore). **A:** Árvore filogenética Bayesiana baseada na região ITS. **B:** Colônia cultivada em PDA a 25°C por 30 dias. **C:** Micélio aéreo com alguns e conídios. **D, E:** Conídios em micélios aéreos. As características morfológicas de FPD13 são semelhantes à cepa tipo *Nigrospora zimmermanii* CBS 290.62 (Wang *et al.* 2017).

Phylogenetic placement and morphological features of the isolate F13 (in red on the tree). A: Bayesian phylogenetic tree based on the ITS region. The tree was reconstructed using the GTR model with one million generations of the Markov Chain Monte Carlo. Numbers on branches indicate BI posterior probabilities. The dataset for this analysis was obtained from Wang *et al.* (2017) and the NCBI-GenBank (Samuels *et al.* 2010), and *Arthrinium vietnamense* IMI 99670 was used as the outgroup. The isolate F13 is placed within *Nigrospora zimmermanii* clade, close to *N. zimmermanii* 44An (pp = 0.8, 99.65% NCBI-Blastn identity). B: Colony F13 grown on PDA at 25 °C for 30 days. C: Aerial mycelia with some conidia. D, E: Conidia in aerial mycelia. The morphological features of F13 are similar to *Nigrospora zimmermanii* ex-type strain CBS 290.62 (Wang *et al.* 2017).



FONTE: Do autor

Anexo N - Banco de Dados Interno (BDI) *Nigrospora Sp.*

Fonte Biológica	m/z	fórmula	Nome Químico	Rt
<i>N. sphaerica</i>	111.0195	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂	Uracil	10
<i>N. sphaerica</i>	117.0188	C ₄ H ₆ O ₄	Succinic acid	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>PSUF5</i>	123.044629	C ₇ H ₈ O ₂	3-hydroxymethyl-phenol	10
<i>N. sphaerica</i>	125.0239	C ₆ H ₆ O ₃	5-(Hydroxymethyl) furan-2-carbaldehyde	10
<i>N. sphaerica</i>	125.0351	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂	Thymine	10
<i>N. sphaerica</i>	130.0868	C ₆ H ₁₃ NO ₂	Leucine	10
<i>N. sphaerica</i>	134.0467	C ₅ H ₅ N ₅	Adenine	10
<i>N. sphaerica</i>	135.0446	C ₈ H ₈ O ₂	Phenylacetic acid	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>PSU-F11</i>	137.0239	C ₇ H ₆ O ₃	4-hydroxybenzoic acid	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	137.0239	C ₇ H ₆ O ₃	p-hydroxybenzoic acid	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	137.0603	C ₈ H ₁₀ O ₂	tirosol	10
<i>N. sphaerica</i>	141.0664	C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₂	3,6-Dimethylpiperazine-2,5-dione[cyclo-(Ala-Ala)]	10
<i>Nigrospora sp.</i> Z18- 17	142.0504	C ₆ H ₉ NO ₃	Methyl pyroglutamate	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	143.0722	C ₇ H ₁₂ O ₃	3-(1-hydroxyethyl)-4-methyl dihydrofuran-2(3H)-one	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	143.0722	C ₇ H ₁₂ O ₃	4-(hydroxymethyl)-3,5-dimethyl dihydrofuran-2(3H)-one	10
<i>Nigrospora sp.</i>	144.04496	C ₉ H ₇ NO	indole-3-carbaldehyde	10
<i>Nigrospora sp.</i> BM- 2	144.045	C ₉ H ₇ NO	1H-Indole-3-carboxaldehyde	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>PSUF12</i>	147.0446	C ₉ H ₈ O ₂	3-isochromanone	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	151.03954	C ₈ H ₈ O ₃	methyl 4-hydroxybenzoate	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>PSU-F18</i>	153.055188	C ₈ H ₁₀ O ₃	(+)- phomalactone	10
<i>N. sphaerica</i>	153.0552	C ₈ H ₁₀ O ₃	(-)-phomalactone	10

<i>Nigrospora . Sacchari</i>	153.0552	C8H10O3	5(S)-[1-(1-hydroxybut-2-enyl)]-furan-2-one	10
<i>N. sphaerica</i>	153.0664	C7H10N2O2	Pyrrrolpiperazine-2,5-dione[cyclo-(Pro-Gly)]	10
<i>Nigrospora sp. PSUF5</i>	155.0345	C7H8O4	(+)-epoxydon	10
<i>Nigrospora . Sacchari</i>	155.0708	C8H12O3	nigrosporolactone	10
<i>Nigrospora sp. PSU-F18</i>	155.070844	C8H12O3	5-(S)-[1-(1(S)-hydroxybut-2-enyl)]-dihydrofuran-2-one	10
<i>Nigrospora sp. PSU-F18</i>	167.0344	C8H8O4	nigrosporapyrone D	10
<i>Nigrospora sphaerica ZMT05</i>	167.0708	C9H12O3	(-)-nigrosporione D	10
<i>Nigrospora sphaerica ZMT05</i>	167.0708	C9H12O3	(+)-nigrosporione D	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	167.0822	C8H12N2O2	3-methylhexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	167.3022	C12H24	6-dodecene	10
<i>Nigrospora sp. PSUF5</i>	169.0501	C8H10O4	nigrosporapyrone	10
<i>Nigrospora oryzae SCSGAF 0111</i>	169.0501	C8H10O4	phenol A	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	169.2422	C10H18O2	vinyl 2-ethylhexanoate	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	171.2922	C11H24O	1-undecanol	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	177.0552	C10H10O3	3,4-dihydro-4,8-dihydroxy,1(2H)-naphthalenone	10
<i>Nigrospora sp</i>	177.0552	C10H10O3	mellein	10
<i>Nigrospora sp. BM- 2</i>	177.0916	C11H14O2	pestalafuranone F	10

<i>Nigrospora sphaerica</i>	179.0708	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	benzeneethanol 4-hydroxy-1-acetate	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	179.0708442	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	pestalopyrone	10
<i>Nigrospora aurantiaca</i> TMU062	181.1303	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	nigaurdiol	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	181.3422	C ₁₃ H ₂₆	cyclotridecane	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> ZMT05	183.0658	C ₉ H ₁₂ O ₄	(-)-nigrosporione A	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> ZMT05	183.0658	C ₉ H ₁₂ O ₄	(+)-nigrosporione A	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> ZMT05	183.0658	C ₉ H ₁₂ O ₄	nigrosporione A	10
<i>Nigrospora sp</i>	183.1021	C ₁₀ H ₁₆ O ₃	8-dihydorramulosin	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> ZMT05	185.0814	C ₉ H ₁₄ O ₄	nigrosporione B	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> ZMT05	185.0814	C ₉ H ₁₄ O ₄	nigrosporione C	10
<i>N. oryzae</i>	188.951	C ₇ H ₄ Cl ₂ O ₂	2,4-Dichlorobenzoic acid	10
<i>Nigrospora sp. BM-2</i>	191.0345	C ₁₀ H ₈ O ₄	5,8-dihydroxy-4-methyl-coumarin	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	191.07084	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	harzialactone A	10
<i>Nigrospora sp. PSUF5</i>	193.0501	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	3,4-dihydro-3,4,8-trihydroxy-1[2H]-naphthalenone	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	193.0501	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	4,6,8-trihydroxy-3,4-dihydronaphthalen-1(2H)-one (6-hydroxyisosclerone)	10
<i>Nigrospora sp. BM-2</i>	193.0501	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	4-hydroxymellein	10
<i>Nigrospora sp. BM-2</i>	193.0501	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	6-hydroxymellein	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	193.0501	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	scytalone	10
<i>Nigrospora sp. BM-</i>	193.0865	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	pestalafuranone A	10

2				
<i>Nigrospora sp. BM-2</i>	193.0865	C11H14O3	pestalafuranone B	10
<i>Nigrospora sp. BM-2</i>	193.0865	C11H14O3	pestalafuranone H	10
<i>Nigrospora sp. BM-2</i>	193.0865	C11H14O3	pestalafuranone J	10
<i>N. camelliae-sinensis S30</i>	193.0977	C10H14N2O2	Cyclo-(Pro-Pro)	10
<i>Nigrospora sp. Z18-17</i>	195.0658	C10H12O4	2-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid methyl ester	10
<i>Nigrospora sp. PSU-F5</i>	195.0658	C10H12O4	clavatul	10
<i>Nigrospora sp. PSUF5</i>	195.0658	C10H12O4	hydroxypestalopyrone	10
<i>Nigrospora sp. BM-2</i>	195.1021	C11H16O3	pestalafuranone G	10
<i>Nigrospora camelliae-sinensis S30</i>	195.113385	C10H16N2O2	cyclo-(L-Val-L-Pro)	10
<i>Nigrospora sp. Z18-17</i>	195.1134	C10H16N2O2	Cyclo-(Pro-Val)	10
<i>Nigrospora sp.</i>	196.09739	C10H15NO3	tenuazonic acid	10
<i>Nigrospora Zammmini</i>	197.0819	C10H14O4	decarestrictine A	10
<i>Nigrospora oryzae S4</i>	199.0971	C10H16O4	Diplodialide D	10
<i>N. sphaerica</i>	203.0821	C11H12N2O2	3-Benzylpiperazine-2,5-dione[cyclo-(Gly-Phe)]	10
<i>Nigrospora sp. YE3033</i>	205.0501	C11H10O4	(7S)-7-hydroxy-3,7-dimethylisochromene-6,8-dione	10
<i>Nigrospora camelliae-sinensis</i>	205.0622	C10H10N2O3	5-(4'-hydroxybenzyl) hydantoin	10

S30				
<i>Nigrospora sphaerica</i>	205.3122	C14H22O	2,4-Di-tert-butylphenol	10
<i>Nigrospora sp. YE 3033</i>	209.045	C10H10O5	cis-4-Hydroxyscytalone	10
<i>Nigrospora sp. Z18-17</i>	209.0814	C11H14O4	4-hydroxyphenethyl 2-hydroxypropanoate	10
<i>Nigrospora. oryzae</i>	209.129	C11H18N2O2	Cyclo-(Pro-Ile)	10
<i>N. camelliae-sinensis S30</i>	209.129	C11H18N2O2	Cyclo-(R-Leu-R-Pro)	10
<i>Nigrospora camelliae-sinensis S30</i>	209.1322	C11H18N2O2	cyclo-(L-Ile-L-Pro)	10
<i>Nigrospora camelliae-sinensis S30</i>	209.1322	C11H18N2O2	cyclo-(L-leucine-L-proline)	10
<i>Nigrospora camelliae-sinensis S30</i>	209.1322	C11H18N2O2	cyclo-(L-Leu-L-Pro)	10
<i>Nigrospora sp. BM-2</i>	211.0971	C11H16O4	pestalafuranone I	10
<i>Nigrospora sp.</i>	213.2522	C10H18N2O3	cyclo(threonylisoleucinyl)	10
<i>Nigrospora sphaerica (No.83-1-1-2)</i>	215.0708	C13H12O3	alternariol	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	216.1236	C10H19NO4	(2S)-5-acetamidopentyl-2-hydroxypropanoate	10
<i>Nigrospora sp. PSUF12</i>	219.1385	C14H20O2	(-)-Drimenin	10
<i>N. oryzae</i>	222.0668	C13H9N3O	Phenazine-1-carboxamide	10
<i>N. oryzae</i>	223.0508	C13H8N2O2	Phenazine-1-carboxylic acid	10
<i>N. camelliae-sinensis S30</i>	223.1447	C12H20N2O2	Cyclo-(4-methyl-R-Pro-S-Nva)	10

<i>Nigrospora</i>				
<i>camelliae-sinensis</i> S30	225.1222	C11H18N2O3	cyclo[L-(4-hydroxyprolinyl)-L-Leu]	10
<i>N. sphaerica</i>	225.1239	C11H18N2O3	3-Isobutyl-7-hydroxy-pyrrolpiperazine- 1,4-dione	10
<i>Nigrospora</i> <i>sphaerica</i>	227.20112	C14H28O2	myristic acid	10
<i>Nigrospora</i> <i>sphaerica</i> (No.83-1- 1-2)	229.0865	C14H14O3	alternariol-9-methyl ether	10
<i>Nigrospora sp. BCC</i>	233.0814	C13H14O4	7-hydroxy-3-(2-hydroxy-propyl)-5- methylisochromen-1-one	10
<i>Nigrospora sp.</i>	233.0814	C13H14O4	aloesol	10
<i>Nigrospora sp.</i> PSUF12	235.1334	C14H20O3	aplysiopsene D	10
<i>Nigrospora.</i> <i>sphaerica</i> #003	235.1698	C15H24O2	Isodrimenilol	10
<i>N. sphaerica</i> ZMT05	237.1127	C13H18O4	ethyl 4-ethoxy-2-hydroxy-3,6- dimethylbenzoate	10
<i>Nigrospora oryzae</i> S4	237.1491	C14H22O3	Nigrosporanene C	10
<i>Nigrospora oryzae</i> S4	237.1491	C14H22O3	Nigrosporanene D	10
<i>Nigrospora.</i> <i>sphaerica</i> #003	237.1855	C15H26O2	11,12-Trihydrooxydrimene	10
<i>Nigrospora.</i> <i>sphaerica</i> #003	237.1855	C15H26O2	Bisaboiol oxide B	10
<i>Nigrospora oryzae</i> A8	237.1855	C15H26O2	Capitulatin B	10
<i>Nigrospora</i> <i>sphaerica.</i>	238.1192	C13H19O4	3-hydroxybutan-2-yl 2-hydroxy-3- phenylpropanoate	10
<i>N. sphaerica</i>	241.0726	C12H10N4O2	7,8-Dimethyl,benzo(g)pteridine- 2,4(1H,3H)-dione	10

<i>Nigrospora sphaerica</i>	243.06173	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	uridine	10
<i>Nigrospora camelliae-sinensis</i> S30	243.113385	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₂	cyclo-(L-Pro-L-Phe)	10
<i>N. camelliae-sinensis</i> S30	243.1134	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₂	Cyclo-(Phe-Pro)	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	243.2722	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₂	3-benzylhexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> (No.83-1-1-2)	245.0814	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	4-hydroxyalternariol-9-methyl ether	10
<i>N. sphaerica</i> (No.83-1-1-2)	245.0814	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	5?-methoxy-6-methyl-biphenyl-3,4,3? - triol	10
<i>Nigrospora sp.</i> PSUF5	247.1334	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	(+)-deoxyabscisic acid	10
<i>N. sphaerica</i> ZMT05	247.1334	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	4-prenyloxyclovatol	10
<i>Nigrospora sphaerica.</i>	248.1043	C ₁₄ H ₁₇ O ₄	1-(5-oxotetrahydrofuran-2-yl) ethyl 2-phenylacetate	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	249.09158	C ₁₇ H ₁₄ O ₂	gymnoascolide A	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> #003	249.1491	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	Dendocarbin A	10
<i>N. oryzae</i> SCSGAF	251.0821	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₂	2-(4-Hydroxybenzyl)quinazolin-4(3H)-one	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> UK181RRC	251.1284	C ₁₄ H ₂₀ O ₄	nigrosporolideo	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> #003	251.1647	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	Danilol	10
<i>Nigrospora sp.</i>	251.1647	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	Punctaporonin D	10
<i>Nigrospora sp.</i>	251.1647	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	Punctaporonin E	10
<i>Nigrospora sp.</i>	251.1647	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	Punctaporonin F	10

<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	253.0501	C15H10O4	aloesaponarin II	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	253.0501	C15H10O4	isozyganein	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>PSUF11</i>	253.144	C14H22O4	Nigrosporanene A	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>PSUF11</i>	253.144	C14H22O4	Nigrosporanene B	10
<i>Nigrospora oryzae</i> A8	253.1804	C15H26O3	11-Hydroxycapitulatin B	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	255.0294	C14H8O5	1,2,8-trihydroxyanthraquinone	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	255.0294	C14H8O5	1,3,8-trihydroxyanthraquinone	10
<i>Nigrospora.</i> <i>sphaerica</i> #003	255.196	C15H28O3	(3R,6E,10S)-2,6,10-Trimethyl-3-hydroxydodeca-6,11-diene-2,10-diol	10
<i>Nigrospora</i> <i>sphaerica</i>	255.23243	C16H32O2	palmitic acid	10
<i>Nigrospora</i> <i>aurantiaca</i> TMU062	256.1072	C14H18O3	xyloketal k	10
<i>N. oryzae</i> (ZJ- 2008005)	256.1086	C14H15N3O2	L-Alanyl-L-tryptophan anhydride	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>MA75</i>	257.04502	C14H10O5	3,6,8-trihydroxy-1-methylxanthone	10
<i>Nigrospora. oryzae</i>	259.1083	C14H16N2O3	Cyclo-(Pro-Tyr)	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	263.128369	C15H20O4	(S)-abscisic acid	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>PSUF5</i>	263.1284	C15H20O4	(+)-abscisic acid	10
<i>Nigrospora.</i> <i>sphaerica</i> #003	265.144	C15H22O4	3?-OH-Dendocarbin A	10
<i>Nigrospora</i> <i>sphaerica</i>	266.08894	C10H13N5O4	adenosine	10
<i>Nigrospora</i>	266.1422	C14H21NO4	nigrosporamide B	10

<i>camelliae-sinensis</i>				
<i>S30</i>				
<i>Nigrospora sp.</i>	267.1597	C15H24O4	Desuccinoylpunctaporonin C	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	269.045	C15H10O5	1, 3, 7-trihydroxy-6-methylanthraquinone	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	269.045	C15H10O5	1,3,6-trihydroxy-8-methylanthraquinone	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	271.0243	C14H8O6	rheomodol	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>MA75</i>	271.0607	C15H12O5	3,8-dihydroxy-6-methoxy-1-methylxanthone	10
<i>N. camelliae-sinensis S30</i>	275.1032	C14H16N2O4	Cyclo-(Tyr-Hyp)	10
<i>Nigrospora. oryzae</i>	275.1396	C15H20N2O3	Cyclo-(Leu-Tyr)	10
<i>Nigrospora. oryzae</i> <i>SCSGAF</i>	276.0872	C14H15NO5	nigrospin A	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	279.12327	C15H20O5	(S)-7?-hydroxyabscisic acid	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>PSUF5</i>	279.1233	C15H20O5	(+)-phaseic acid	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	281.24809	C18H34O2	oleic acid	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	283.0607	C16H12O5	1-acetyl-4,5-dihydroxyanthraquinone	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	283.0607	C16H12O5	macrosporin	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	283.26371	C18H36O2	stearic acid	10
<i>Nigrospora. sphaerica</i>	285.0763	C16H14O5	5,8-Dihydroxy-7-methoxy-2-phenyl,4H-1-benzopyran-4-one	10
<i>Nigrospora sp. YS7</i>	286.14433	C17H21NO3	solanapyrone G	10
<i>Nigrospora sp. BCC</i> <i>47789</i>	291.0822	C15H16O6	nigrosporone B	10
<i>Nigrospora</i>	291.0869	C15H16O6	(-)-(2R,3R,4aR)-altenuene	10

<i>sphaerica</i> (No.83-1-1-2)				
<i>Nigrospora</i>				
<i>sphaerica</i> (No.83-1-1-2)	291.0869	C15H16O6	(-)-(2S,3S,4aR)-isoaltenuene	10
<i>Nigrospora</i>				
<i>sphaerica</i> (No.83-1-1-2)	291.0869	C15H16O6	(+)-(2R,3R,4aS)-isoaltenuene	10
<i>Nigrospora</i>				
<i>sphaerica</i> (No.83-1-1-2)	291.0869	C15H16O6	(+)-(2S,3S,4aS)-altenuene	10
<i>Nigrospora</i> sp.Z18-17	292.1185	C15H19NO5	Methyl 5-acetamido-6-(4-hydroxyphenyl)-4-oxohexanoate	10
<i>Nigrospora</i> sp. PSU-F5	293.0662	C14H14O7	nigrospoxydon C	10
<i>Nigrospora</i> sp. BCC 47789	293.1022	C15H18O6	nigrosporone A	10
<i>Nigrospora</i> <i>sphaerica</i>	295.0922	C18H16O4	1,4-dioxane-2,5-dione-3,6-bis(penylmethyl)-homopolymer	10
<i>Nigrospora</i> sp. (ZJ-2010006)	299.0556	C16H12O6	3,5,8-trihydroxy-7-methoxy-2-methylanthracene-9,10-dione	10
<i>Nigrospora</i> sp.HPFJ3	299.2586	C18H36O3	4-Hydroxy-18 carbonic acid	10
<i>Nigrospora</i> <i>sphaerica</i>	301.0712	C16H14O6	2, 5, 7-trihydroxy-4-(30 -methylbut-20 -en-10 -yl) oxy-2H-naphtho [1, 8-b c] furan-9- one	10
<i>Nigrospora</i> <i>camelliae-sinensis</i> S30	301.1222	C16H18N2O4	nigrosporamide A	10
<i>Nigrospora</i> sp. PSU-F18	301.14399	C18H22O4	solanapyrone A	10
<i>Nigrospora</i> sp. YS7	302.1352	C17H21NO4	solanapyrone E	10
<i>Nigrospora</i> sp.	303.0822	C16H16O6	6-O-desmethyldechlorogriseofulvin	10

<i>MA75</i>				
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	303.086896	C16H16O6	altersolanol B	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>MA75</i>	303.0869	C16H16O6	griseophenone C	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	303.0869	C16H16O6	nigrosporin A	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	303.0869	C16H16O6	nigrosporin B	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	305.0622	C15H14O7	6-O-demethyl-4-dehydroxyaltersolanol A	10
<i>Nigrospora sp. BCC</i> <i>47789</i>	305.1022	C16H18O6	fusaquinon A	10
<i>Nigrospora</i> <i>sp. YE3033</i>	313.1076	C18H18O5	8,11-didehydrochermesinone B	10
<i>Nigrospora sp. YB-</i> <i>141</i>	314.1756	C19H25NO3	solanapyrone O	10
<i>Nigrospora sp. Z18-</i> <i>17</i>	315.0829	C12H16N2O8	Uridine-5'-hydroxypropanoate	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	315.1233	C18H20O5	chermesinone B	10
<i>Nigrospora sp. YB-</i> <i>141</i>	316.1549	C18H23NO4	solanapyrone N	10
<i>Nigrospora sp.</i>	317.1025	C17H18O6	dechlorogriseofulvin	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>PSU-F18</i>	317.138929	C8H22O5	nigrosporapyrone A	10
<i>Nigrospora sp. (ZJ-</i> <i>2010006)</i>	319.0818	C16H16O7	10-deoxybostrycin	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>YE3033</i>	319.0818	C16H16O7	4- dehydroxyaltersolanol A	10
<i>Nigrospora sp. (ZJ-</i> <i>2010006)</i>	319.0818	C16H16O7	4-deoxybostrycin	10
<i>Nigrospora sp DBR-</i> <i>5</i>	319.0818	C16H16O7	deoxybostrycin	10
<i>Nigrospora sp DBR-</i>	319.0819	C16H16O8	austrocortirubin	10

5				
<i>Nigrospora sphaerica</i>	319.3922	C19H28O4	phthalic acid, 5-methylhex-2-yl isobutyl ester	10
<i>Nigrospora sphaerica.</i>	321.1122	C20H18O4	nigronaphthaphenyl	10
<i>Nigrospora. oryzae</i> SCSGAF	321.1338	C17H22O6	1-acetonyl-7-carboxyl-6,8-dihydroxy-3,4,5-trimethylisochroman	10
<i>Nigrospora sphaerica.</i>	321.2429	C20H34O3	3-oxoaphidicolin	10
<i>Nigrospora sphaerica.</i>	321.242994	C20H34O3	3-deoxyaphidicolin	10
<i>N. oryzae</i> (ZJ-2008005)	322.1556	C19H21N3O2	neoechinulin A	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	323.055585	C18H12O6	sterigmatocystin	10
<i>Nigrospora sp.</i> MA75	323.1122	C16H20O7	4- deoxytetrahydrobostrycin	10
<i>Nigrospora sp.</i> PSU-N24	323.1131	C16H20O7	9?-hydroxydihydrodesoxybostrycin	10
<i>Nigrospora aurantiaca</i> TMU062	323.1131	C16H20O7	xylanthraquinone	10
<i>Nigrospora sp.</i>	323.1209	C16H20O7	8-hydroxytetrahydroaltersolanol B	10
<i>N. oryzae</i> (ZJ-2008005)	324.1712	C19H23N3O2	Preechinulin	10
<i>Nigrospora sp.</i> YB-141	330.1706	C19H25NO4	solanapyrone C	10
<i>Nigrospora. oryzae</i>	331.2273	C21H32O3	Demethylcisterol A3	10
<i>Nigrospora sp.</i>	333.1022	C17H18O7	(2S,5?R,E)-7-hydroxy-4,6-diethoxy-2-(1-methoxy-3-oxo 5-methylhex-1-enyl)-benzofuran-3(2H)-one	10
<i>Nigrospora sp.</i>	335.0767	C16H16O8	bostrycin	10
<i>Nigrospora sp.</i>	335.076703	C16H16O8	bostrycin	10
<i>Nigrospora. oryzae</i> SCSGAF	335.1859	C19H28O5	nigrospin C	10

<i>Nigrospora</i> sp. (ZJ-2010006)	337.1288	C17H22O7	4a-epi-9?-Methoxydihydrodeoxybostrycin	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> .	337.2372	C20H34O4	aphidicolin	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> .	338.0922	C16H20O8	nigroquinone D	10
<i>Nigrospora</i> sp. MA75	339.108014	C16H20O8	tetrahydrobostrycin	10
<i>Nigrospora</i> sp. PSU-F18	346.1654	C19H25NO5	nigrosporapyrone B	10
<i>Nigrospora</i> sp. PSU-F18	346.1655	C19H25NO5	nigrosporapyrone C	10
<i>Nigrospora</i> sp DBR-5 and <i>Nigrospora</i> sp LLGLM003	351.0636	C17H17ClO6	griseofulvin	10
<i>Nigrospora sphaerica</i> .	351.2404	C20H33NO4	3-oxime-aphidicolin	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	353.6922	C24H50O	n-tetracosanol-1	10
<i>Nigrospora. oryzae</i> SCSGAF	361.1651	C20H26O6	nigrospin B	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	363.6922	C26H52	9-hexacosene	10
<i>Nigrospora. oryzae</i> SCSGAF	366.1553	C18H25NO7	nigrospine	10
<i>Nigrospora</i> sp. MA75	367.058484	C17H17ClO7	6'-hydroxygriseofulvin	10
<i>Nigrospora</i> sp.	367.0622	C17H17O7Cl	methyl 3-chloro-6-hydroxy-2-(4-hydroxy-2-methoxy-6-methylphenoxy)-4-methoxybenzoate	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	369.6522	C16H30O4Si3	2,4-dihydroxybenzoic acid	10
<i>Nigrospora</i>	377.6922	C27H54	heptacos-1-ene	10

<i>sphaerica</i>				
<i>Nigrospora sp.</i> <i>PSUF12</i>	379.115	C18H24N2O3S2	Sch 54796	10
<i>N. sphaerica</i>	385.3471	C27H46O	Cholesterol	10
<i>N. oryzae (ZJ-2008005)</i>	390.2182	C24H29N3O2	Isoechinulin A	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	391.3022	C28H40O	ergosta-4,6,8(14),22-tetraene-3one	10
<i>N. oryzae (ZJ-2008005)</i>	392.2338	C24H31N3O2	Tardioxopiperazine A	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	393.3122	C28H42O	ergosta-4,6,8(14),22-tetraene-3?-ol	10
<i>Nigrospora aurantiaca TMU062</i>	395.3314	C28H44O	ergosterol	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	395.3322	C28H44O	ergosta-5(6),7,22-triene-3?-ol	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	395.3322	C28H44O	ergosta-7,9(14),22-triene-3?-ol	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	397.3422	C28H46O	ergosta-7,22-diene-3?-ol	10
<i>Nigrospora sp.</i>	399.1808	C23H28O6	Vermixocin B	10
<i>Nigrospora sp.</i>	401.1601	C22H26O7	Tenellic acid A	10
<i>Nigrospora. oryzae</i>	411.3263	C28H44O2	6?,9?-Epoxyergosta-7,22-dien-3-?-ol	10
<i>Nigrospora sp.</i> <i>PSUF5</i>	419.1706	C22H28O8	nigrospoxydon A	10
<i>N. oryzae (ZJ-2008005)</i>	424.2237	C24H31N3O4	Dihydroxyisoechinulin A	10
<i>Nigrospora sp.</i>	425.3056	C28H42O3	3?-Hydroxy-5?,9?-epoxy-(22E,24R)-ergosta-7,22-dien-6-one	10
<i>Nigrospora. oryzae</i>	425.3056	C28H42O3	5?,8?-Epidioxy-(22E,24R)-ergosta-6,9,22E-triere-3?-ol	10
<i>Nigrospora. oryzae</i>	427.3212	C28H44O3	(22E,24R)-5?,6?-Epoxyergosta-8(14),22-diene-3?,7?-diol	10

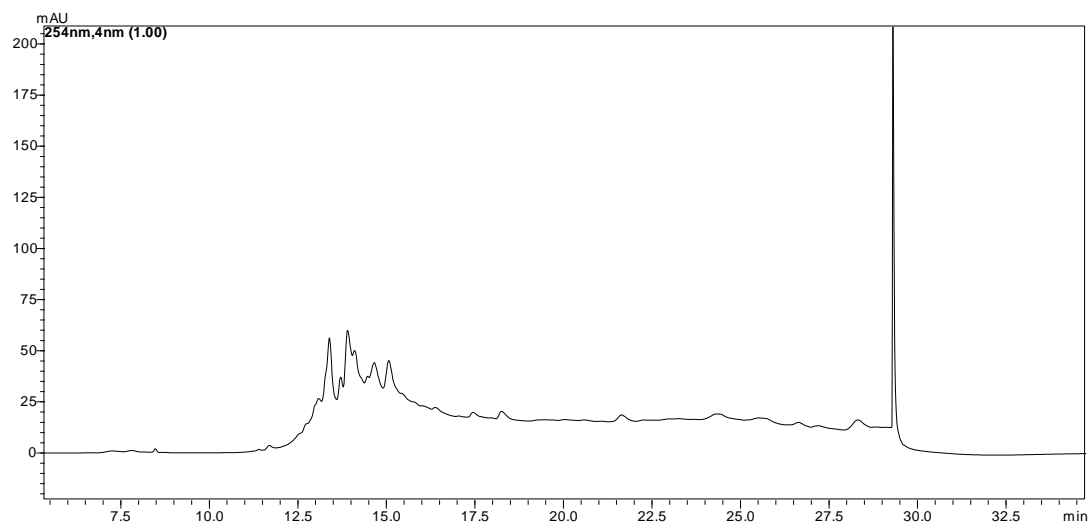
<i>Nigrospora. oryzae</i>	427.3212	C28H44O3	(22E,24R)-5?,6?-Epoxyergosta-8,22-diene-3?,7?-diol	10
<i>N. sphaerica</i>	427.3212	C28H44O3	5?,8?-Epidioxy-(22E, 24R)-ergosta-6,22Edien-3?-ol	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	427.3222	C28H44O3	ergosta-7,22-epidioxy-3?-ol	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	429.3322	C28H46O3	ergosta-6,22-diene-3?,5?,8?-triol	10
<i>Nigrospora. oryzae</i>	429.3369	C28H46O3	Cerevisterol	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	433.0771	C20H18O11	guajjaverin	10
<i>Nigrospora sp.</i>	443.3525	C29H48O3	Ergost-7,22-dien-6?-methoxy-3?,5?-diol	10
<i>Nigrospora. oryzae</i>	443.3525	C29H48O3	Globosterol	10
<i>Nigrospora. oryzae</i>	445.3318	C28H46O4	(22E)-Ergosta-7,22-diene-3?,5?,6?,9?-tetrol	10
<i>Nigrospora sphaerica.UK181</i>	449.0841	C20H22N2O6S2	epoxyexserohilone	10
<i>N. sphaerica</i>	449.0841	C20H22N2O6S2	Exserohilone	10
<i>Nigrospora sp. PSU-F5</i>	449.1812	C23H30O9	nigrospoxydon B	10
<i>N. oryzae (ZJ-2008005)</i>	460.2964	C29H39N3O2	Variecolorin L	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	463.08769	C21H20O12	hyperin	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	463.08769	C21H20O12	nigrosphaerin A	10
<i>Nigrospora oryzae</i>	463.0877	C21H20O12	isoquercitrin	10
<i>Nigrospora sp. MA75</i>	485.2522	C28H38O7	2,3-didehydro19?-hydroxy-14-epicochlioquinone B	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	489.8922	C35H70	17-pentatriacontene	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	576.1922	C18H52O7Si7	3-isopropoxy-1,1,1,7,7,7-hexamethyl-3,5,5-tris(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	10
<i>Nigrospora sp.(ZJ-</i>	595.1816	C31H32O12	nigrodiquinone A	10

<i>2010006)</i>				
<i>N. oryzae PF18</i>	636.4336	C33H59N5O7	Oryzamide A	10
<i>N. oryzae PF18</i>	654.3901	C32H57N5O7S	Oryzamide C	10
<i>N. oryzae PF18</i>	670.385	C32H57N5O8S	Oryzamide D	10
<i>N. oryzae PF18</i>	670.385	C32H57N5O8S	Oryzamide E	10
<i>N. oryzae PF18</i>	670.418	C36H57N5O7	Scopularide A	10
<i>N. oryzae CF- 298113</i>	676.3823	C36H51N7O6	Pipecolisporin	10
<i>N. oryzae PF18</i>	686.4129	C36H57N5O8	Oryzamide B	10
<i>Nigrospora sp. YE 3033</i>	712.5364	C40H75NO9	Cerebroside B	10
<i>Nigrospora sphaerica</i>	809.41254	C46H58N4O9	vinblastine	10

FONTE: Do autor

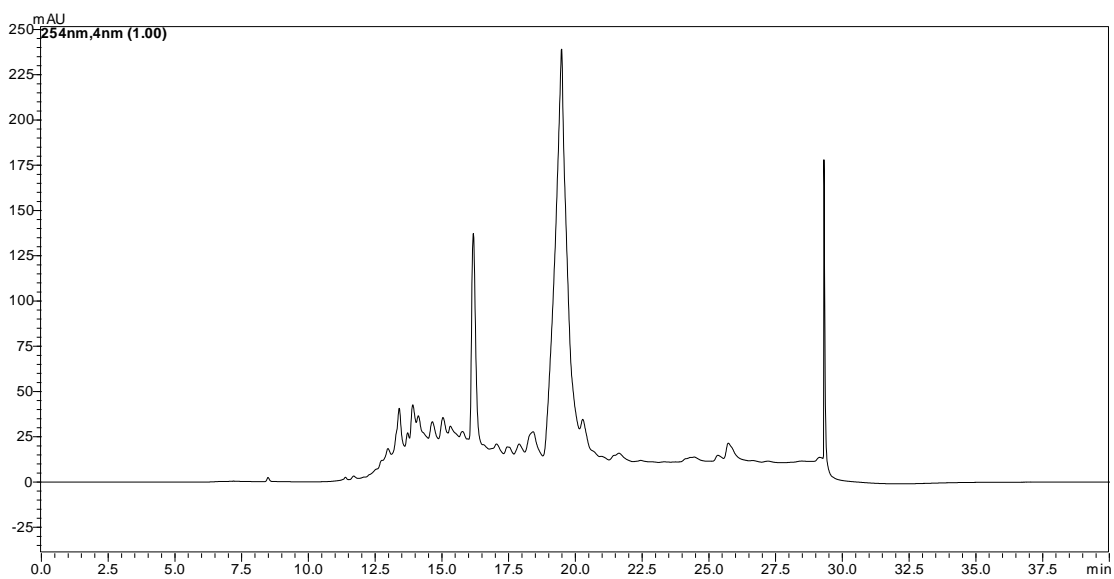
ANEXO O - Cromatogramas de HPLC-UV-DAD dos extratos de fungos endofíticos isolados de *Poincianella pluviosa* método gradiente de 5 a 100% (ACN:H₂O) corrida de 30 min.

1) Extrato Fungo 1



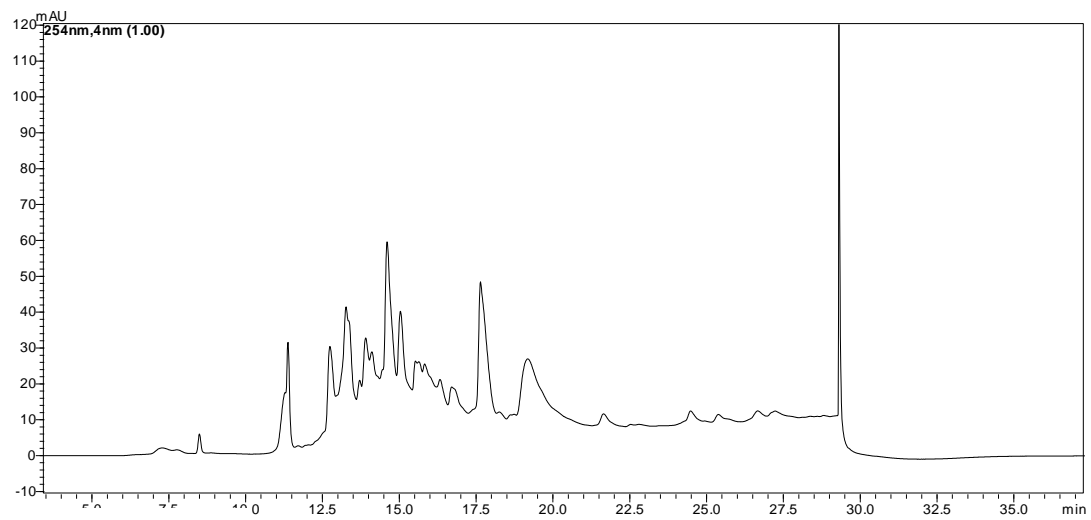
FONTE: Do autor

2) Extrato Fungo 3



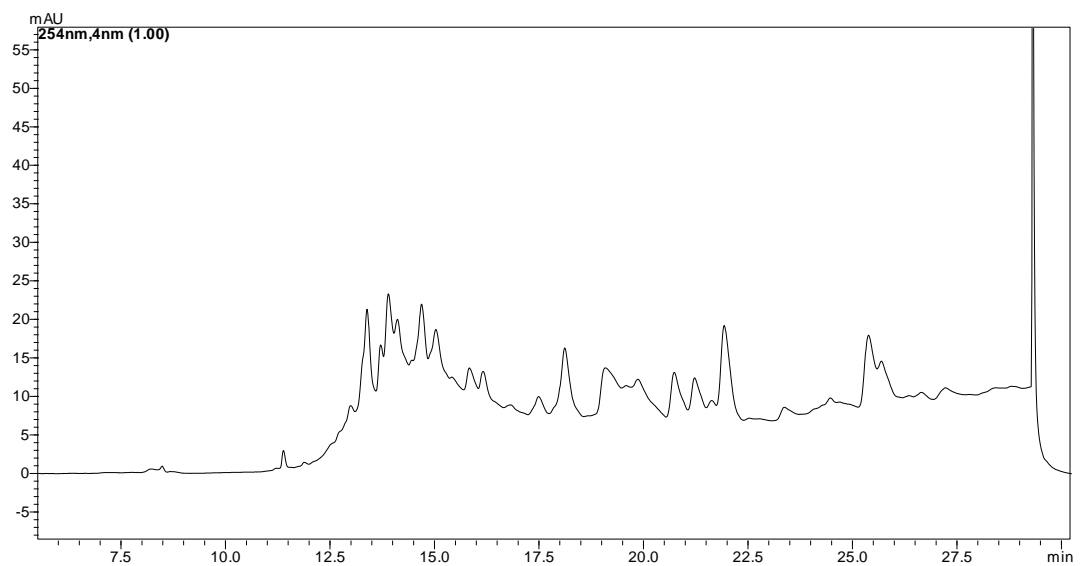
FONTE: Do autor

3) Extrato Fungo 4



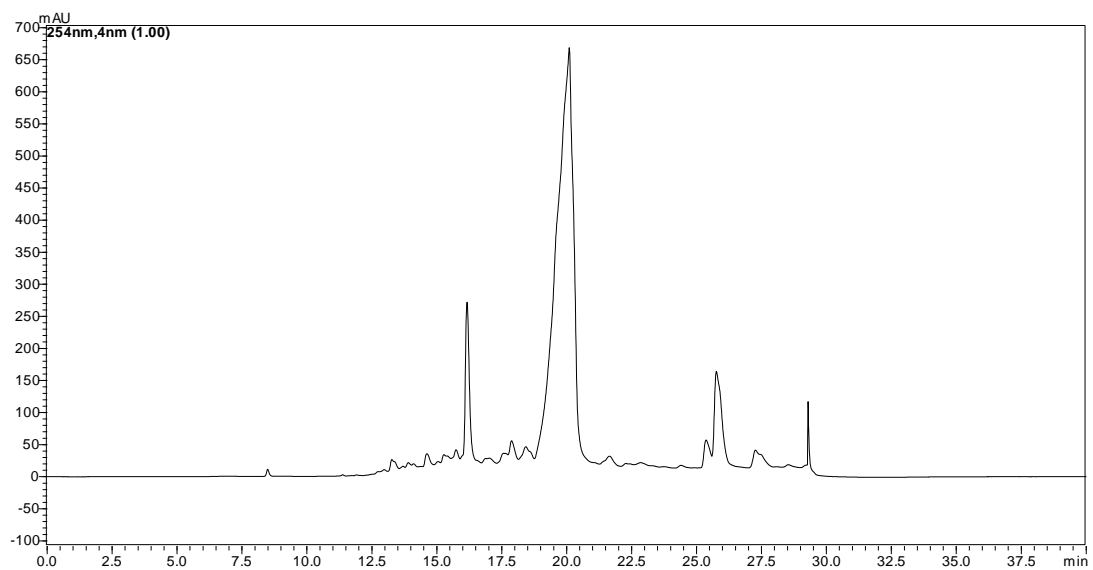
FONTE: Do autor

4) Extrato Fungo 7



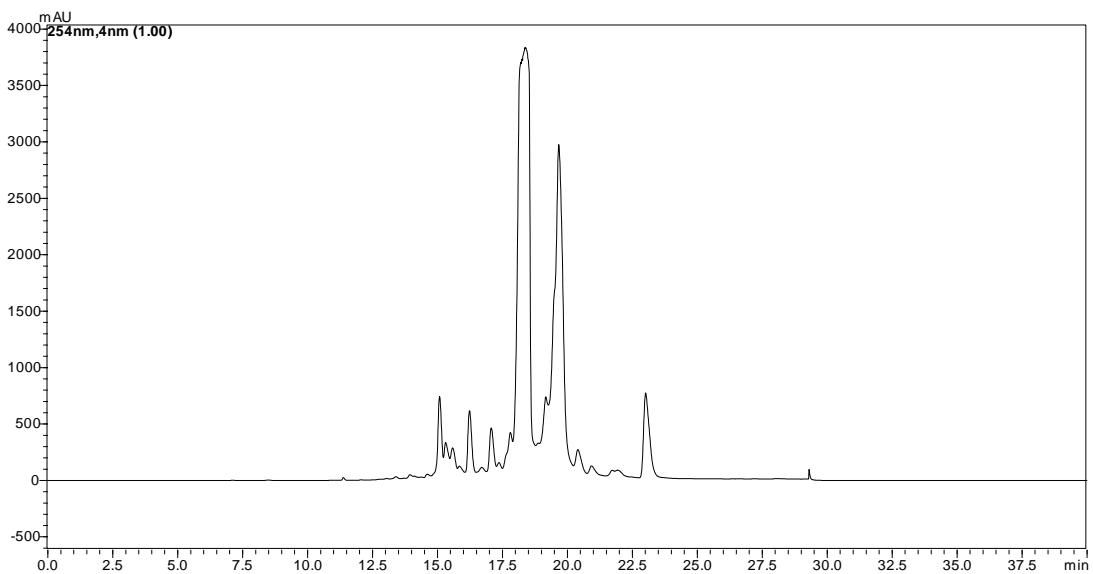
FONTE: Do autor

5) Extrato Fungo 8



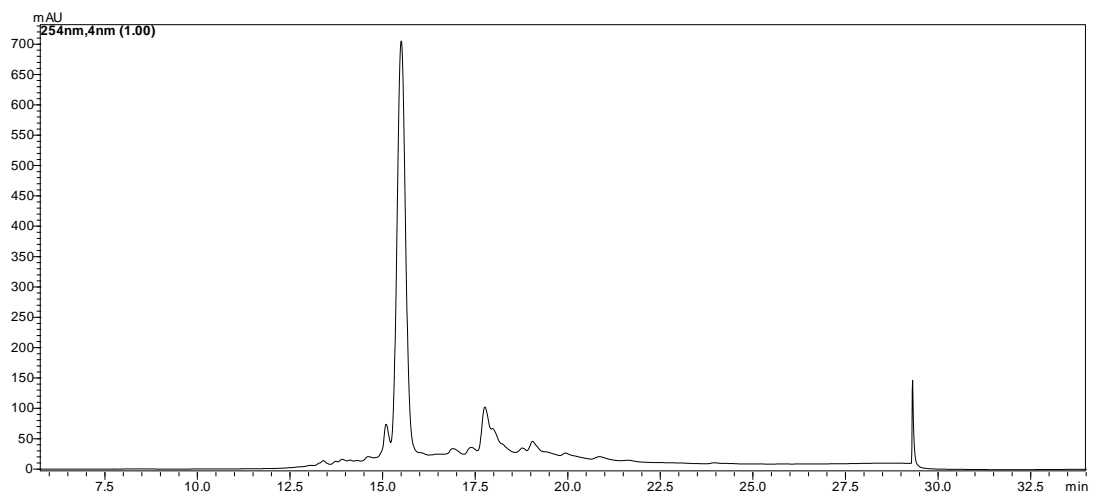
FONTE: Do autor

6) Extrato Fungo 9



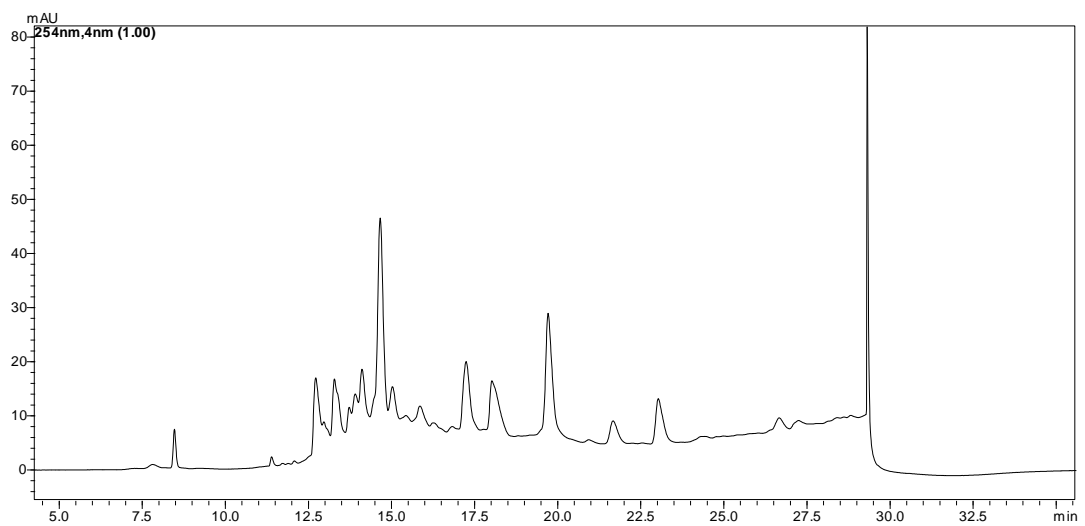
FONTE: Do autor

7) Extrato Fungo 10



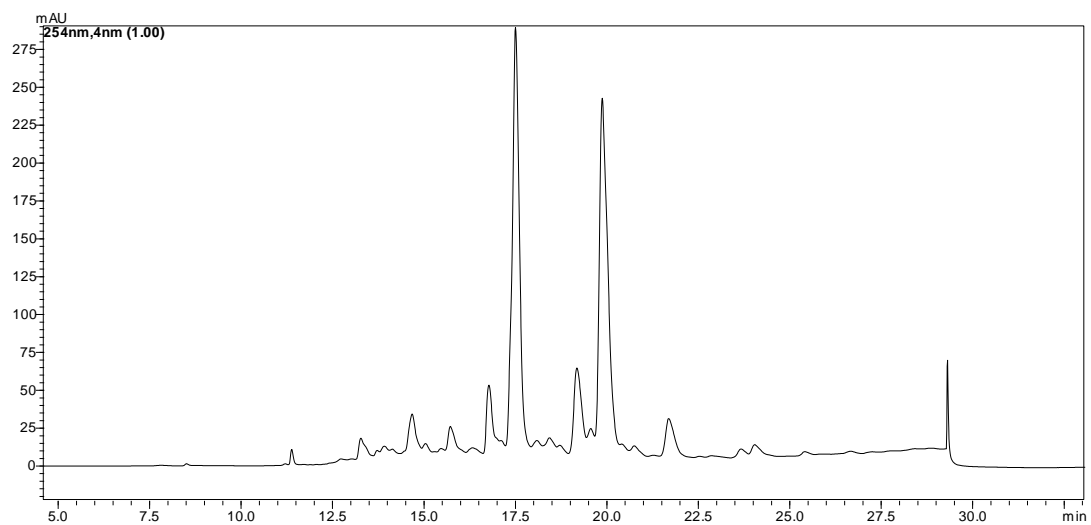
FONTE: Do autor

8) Extrato Fungo 12



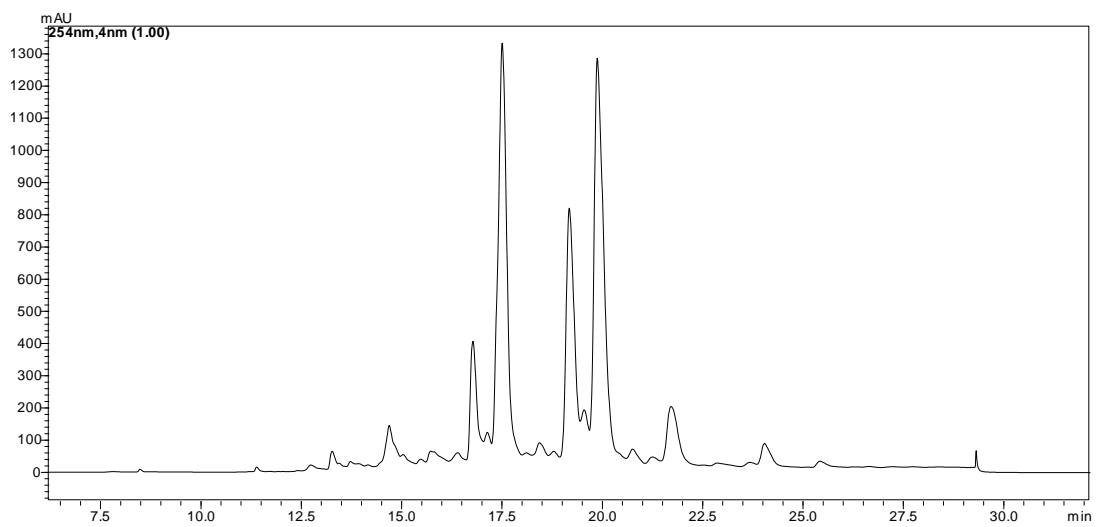
FONTE: Do autor

9) Extrato Fungo 13

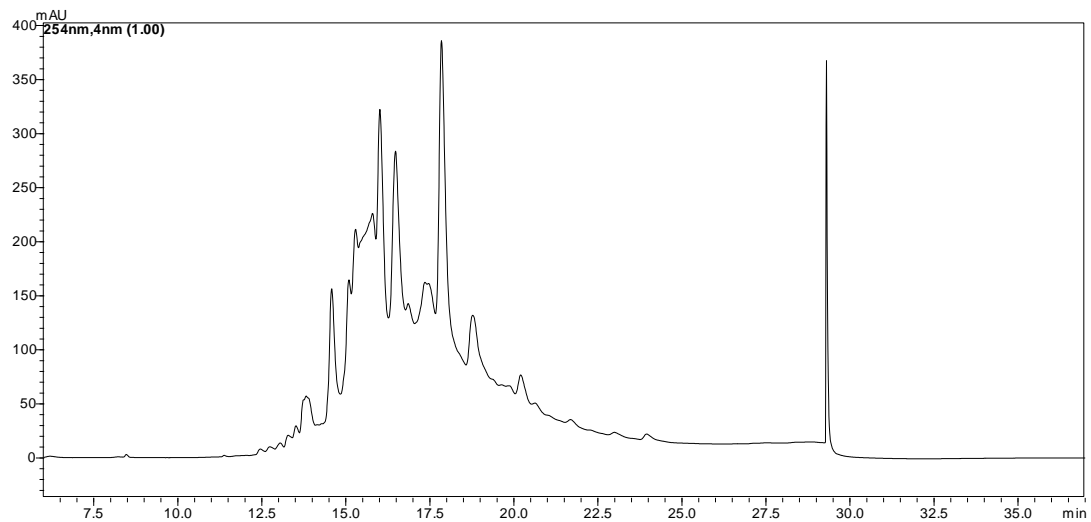


FONTE: Do autor

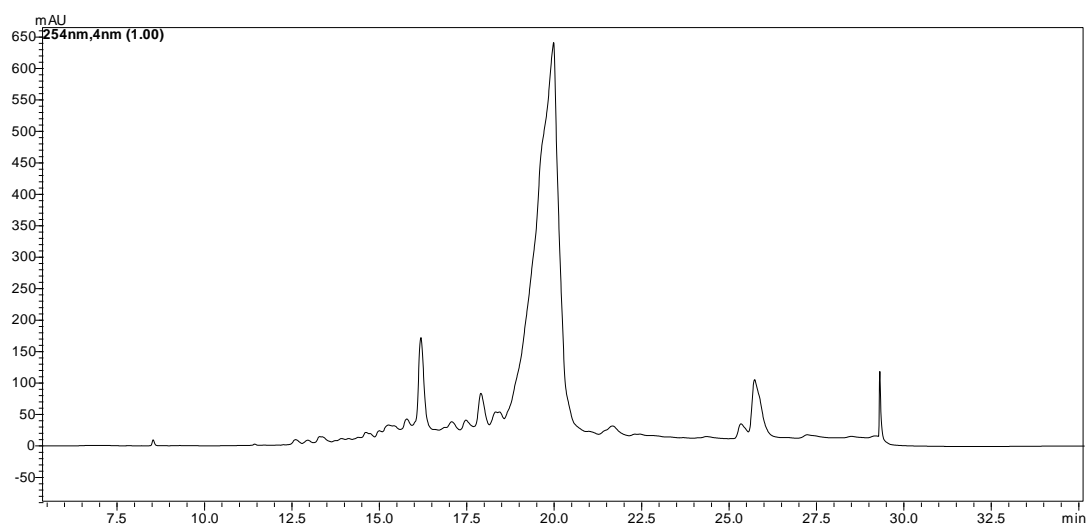
10) Extrato Fungo 13*



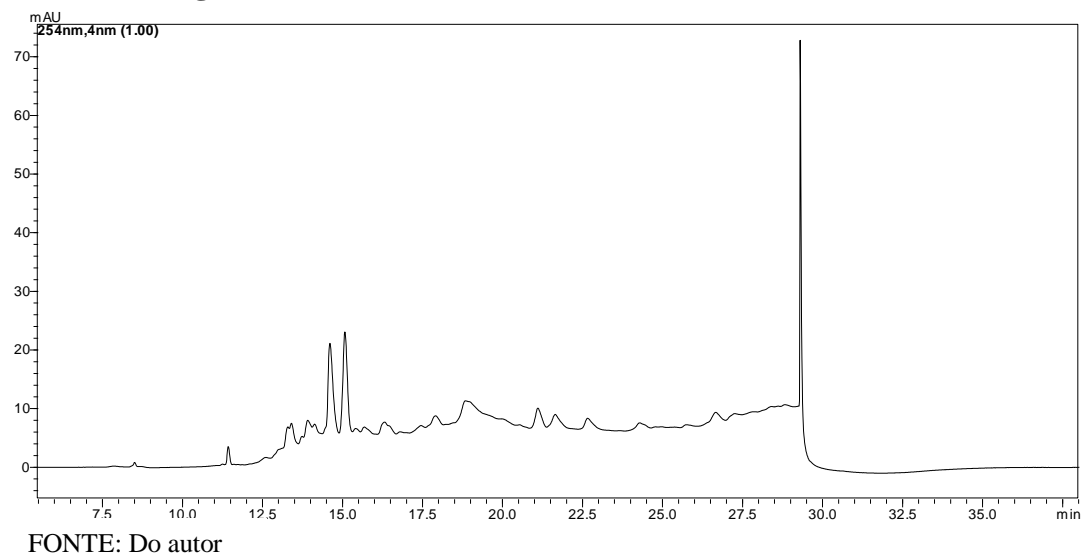
FONTE: Do autor

11) Extrato Fungo 14

FONTE: Do autor

12) Extrato Fungo 16

FONTE: Do autor

13) Extrato Fungo 18**14) Extrato Fungo 19**