

FELIPE ANDRES MONSALVE MARIN

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ESTATINAS E
COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS POR FUNGOS
ISOLADOS DE CANA DE AÇÚCAR EM CULTIVO
SEMI-SÓLIDO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Padilla Maldonado

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

São Paulo
2015

RESUMO

MONSALVE , F. **Avaliação da produção de estatinas e compostos antimicrobianos por fungos isolados de cana de açúcar em cultivo semi-sólido**. 2015. 93 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

As estatinas são os agentes mais eficazes para a redução de colesterol no tratamento de doenças cardiovasculares, e algumas destas moléculas podem ser produzidas através de processos biológicos como o cultivo semi-sólido de fungos filamentosos. O objetivo deste estudo foi determinar a capacidade de produção de estatinas e compostos antimicrobianos por cinco cepas de fungos isolados de cana de açúcar. Para isso, extratos obtidos a partir do tratamento dos cultivos fúngicos e do substrato (Farelo de trigo) com uma solução de acetonitrila e água (2:1), foram analisados por métodos analíticos como cromatografia líquida de alta eficiência e ressonância magnética nuclear para determinar a presença ou ausência de estatinas nas amostras. Adicionalmente, os extratos foram testados contra diferentes modelos biológicos incluindo bactérias, leveduras, fungos filamentosos, células de ovário de hamster chinês, e parasitas como *Leishmania amazonensis* e *Trypanosoma cruzi*. De acordo com os resultados obtidos, os cinco fungos avaliados não produzem estatinas, e em relação ao biomonitoramento dos extratos, foi observado que o extrato de farelo de trigo gerou um efeito antiparasitário, que além de ser uma novidade, destaca-se como um resultado positivo que poderia contribuir na busca de compostos para o tratamento de doenças negligenciadas. Os extratos dos cultivos fúngicos também apresentaram atividade antiparasitária, no entanto, não foi possível determinar se os compostos produzidos pelos fungos poderiam gerar efeito obtido, levando em conta que não é possível separar a biomassa fúngica do substrato dos cultivos (farelo de trigo).

Palavras-chave: Estatinas. Cultivo semi-sólido. Antimicrobianos. Fungos filamentosos. Farelo de trigo.

ABSTRACT

MONSALVE, F. **Production of statins and antimicrobial compounds in solid state fermentation by fungi isolated from sugar cane plants.** 2015. 93 p. Masters thesis (Microbiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Statins are the most effective cholesterol lowering agents for the treatment of cardiovascular disease, and some of these molecules can be produced through biological process such as the solid state fermentation. The aim of this study was determinate the capability of production of statins and antimicrobials compounds by five strains of fungi isolated from Brazilian sugar cane. For this purpose, extracts obtained from treatment of the fungi cultures and from the substrate (Wheat bran) with a solution of acetonitrile and water (2:1) were analyzed through analytical methods as HPLC and NMR in order to determinate the presence or absence of statins; in addition, the extracts were tested against different biological models including bacteria, yeast, filamentous fungi, chinese hamster ovary cells, and parasites such as *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. According to the results obtained, the five fungal strains tested did not produce statins, and the wheat bran extract produced a biological effect against the parasites, which besides being a novelty, stands out as a positive result that could contribute in the research of new compounds for the treatment of neglected diseases. It was not possible to determine if the fungal strains could produce an antiparasitic activity, considering that it is not possible separated the fungal biomass from the substrate to obtain the extracts.

Keywords: Statins. Solid state fermentation. Antimicrobials. Filamentous fungi. Wheat bran.

1 INTRODUÇÃO

Os policetídeos fúngicos representam um grupo estruturalmente diverso de moléculas que exibe atividades biológicas importantes tais como antibióticos, imunossuppressores e antihelmínticos. Entre estas biomoléculas encontram-se as estatinas, consideradas como a classe mais importante produzida pela via biossintética policetídeo sintetase (PRAVEEN e SAVITHA, 2012). Estas biomoléculas são inibidores da primeira enzima comprometida na via do mevalonato, a 3-hidroxi-metilglutaril CoA redutase (HMG-CoA), sendo considerada uma enzima chave na via de produção de colesterol (OSMAK, 2012). Estes inibidores podem ser divididos em: estatinas naturais, seus derivados semi-sintéticos, e as estatinas de origem sintética, cujas estruturas são bastante diferentes das estatinas naturais (Figura 1). Apenas o análogo da HMG-CoA, responsável pela inibição da HMG-CoA redutase, é comum entre as estatinas naturais e sintéticas (BARRIOS-GONZÁLES; MIRANDA, 2010).

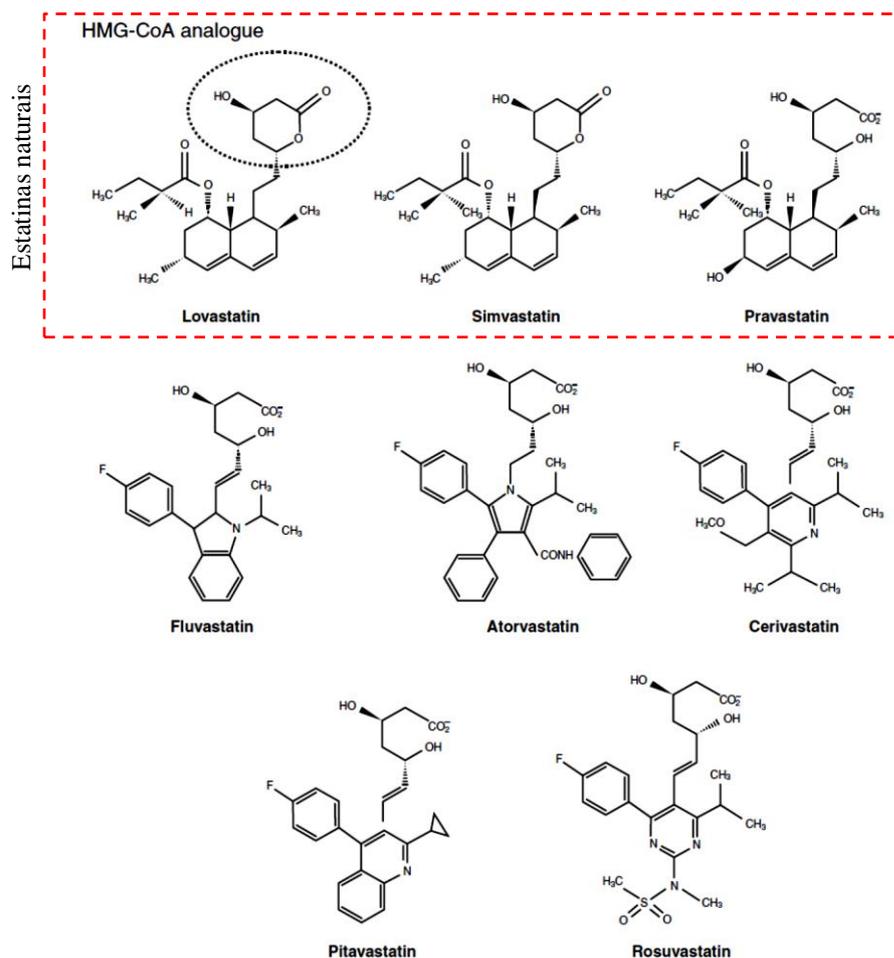


Figura 1- Estrutura química das estatinas (SCHACHTER, 2004).

Dentro do grupo das estatinas naturais destaca-se a lovastatina, que foi a primeira estatina aprovada como medicamento anti-hipercolesterolêmico pela “*Food and Drug Administration*” (FDA) dos Estados Unidos em 1987 (PANSURIYA e SINGHAL, 2010). Esta biomolécula é um metabólito secundário de origem fúngica que pode apresentar-se de duas formas (Figura 2), a forma lactona e a forma hidróxi-ácida, que é o resultado da modificação da forma lactona e representa a molécula biologicamente ativa da Lovastatina (PEI-LIAN, ZHI-NAN e PEI-LIN, 2007; SAMIEE et al., 2003).

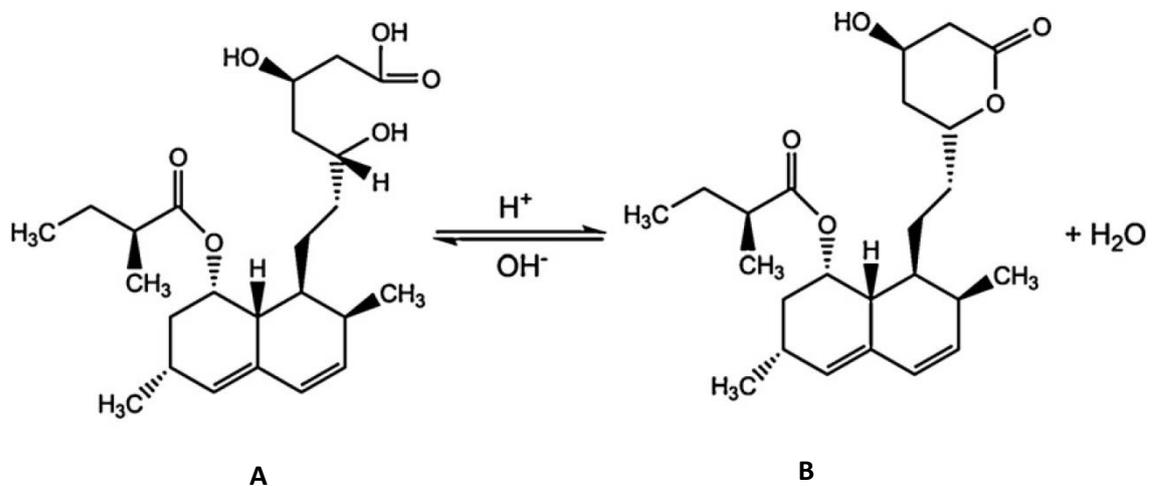


Figura 2- Estruturas da Lovastatina (BIZUKOJC et al., 2012): a) Forma Hidróxi-ácida (molécula ativa); b) Forma lactona (Pró-droga).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 17,3 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares (DCV) em 2008 e prevê-se que 23,6 milhões de pessoas vão morrer no ano de 2030 a causa deste tipo de doenças, sendo prevista para ser a principal causa de morte (WHO, 2013). Uma das razões para esses óbitos é a hipercolesterolemia, e seu tratamento tem como alvo a diminuição da lipoproteína de baixa densidade (LDL), que pode ser atingida por medicamentos quando a dieta e o exercício falham (PRAVEEN e SAVITHA, 2012). Segundo Osmak (2012), as estatinas constituem o princípio ativo de medicamentos tais como: Mevacor® (Lovastatina), Zocor® (Simvastatina), Compactin® (Mevastatina), Lescol® (Fluvastatina), Pravachol® (Pravastatina), Lipitor® (Atorvastatina), Crestor® (Rosuvastatina) e Baycol® (Cerivastatina), sendo os agentes mais eficazes para reduzir o colesterol durante o tratamento de doenças cardiovasculares, o que é refletido no enorme sucesso médico e comercial, gerando bilhões de dólares em vendas anuais (ZHANG et al., 2013b).

A partir do ano 2000, as patentes que cobrem as principais estatinas começaram a expirar, caso da patente da Lovastatina que expirou em 2001, Pravastatina e Simvastatina em 2006, Atorvastatina 2010, Fluvastatina em 2011 e Rosuvastatina em 2012. É previsto que a concorrência com as versões genéricas, juntamente com os avanços tecnológicos irão reduzir os preços das estatinas, tornando-as mais viáveis economicamente (BARRIOS-GONZÁLES; MIRANDA, 2010).

Vários microrganismos têm sido reportados como produtores de Lovastatina, tais como espécies de *Penicillium*, *Monascus*, *Hypomyces*, *Doratomyces*, *Phoma*, *Eupenicillium*, *Gymnoascus*, *Trichoderma* (JAHROMI et al., 2012). No entanto, apenas linhagens de *Aspergillus terreus* foram implementados com sucesso para a produção em escala industrial, sendo a espécie mais reportada na literatura referente a produção de Lovastatina (PANSURIYA e SINGHAL, 2010). Tradicionalmente, a produção foi realizada mediante cultivos em meio líquido, no entanto, a produção em cultivo semi-sólido surgiu recentemente como uma tecnologia atrativa para a produção de enzimas, esporos e diferentes metabólitos secundários como antibióticos, pigmentos, anticorpos, entre outros, provenientes de fungos e actinomicetes. Embora os cultivos em semi-sólido tenham sido amplamente utilizada desde a antiguidade, nos últimos 20 anos este tipo de técnica de cultivo foi modernizada (BARRIOS-GONZÁLES, 2012), permitindo assim ter um maior controle do processo. Este processo acontece na ausência ou quase ausência de água livre, que assegura o crescimento e metabolismo apropriado dos microrganismos, mas não excede a capacidade máxima de retenção de água da matriz sólida (SCHMIDT e FURLONG, 2012). Estas são condições semelhantes ao meio ambiente natural no qual estes microrganismos estão adaptados (HÖLKER, HÖFER e LENZ, 2006). Vários estudos comparativos demonstraram que os cultivos em semi-sólido apresenta vantagens sobre os cultivos em meio líquido, como: i) a obtenção de maior produtividade e rendimento em menor tempo, ii) maior concentração e estabilidade do produto, menor custo do substrato, iii) menor consumo de água e energia no processamento “up-stream” e no processamento “downstream” (HU et al., 2011; JAHROMI et al., 2012; VALERA et al., 2005). A FDA aprovou os cultivos de microrganismos em semi-sólido como processo para a produção de medicamentos de origem fúngica, e recentemente a companhia biofarmaceutica Biocon India Ltd, começou a produzir diferentes metabólitos por cultivos deste tipo em escala industrial, incluindo a Lovastatina.

Podem distinguir-se dois tipos de sistemas de cultivo em semi-sólido segundo a natureza da fase sólida usada: a) Cultivos sobre substratos naturais, que é o sistema mais comum, e b) Cultivos em suportes inertes impregnados com meio de cultura líquido. A

empresa Biocon India Ltd. produz Lovastatina usando o primeiro tipo de sistema de produção mencionado, cultivando a cepa *A. terreus* em farelo de trigo, que tem a função de suporte e de substrato (BAÑOS et al., 2009). Diferentes substratos naturais estão sendo avaliados para a produção de Lovastatina incluindo: grãos de sorgo, farelo de trigo, arroz e resíduos agroindustriais, cujo processamento inclui a queima para a eliminação e/ou geração de energia, compostagem, alimento para ruminantes, entre outros (VARELA et al., 2005). Estes resíduos são potenciais substratos econômicos para a produção de produtos de interesse biotecnológico.

Estudos recentes apontando efeitos pleiotrópicos das estatinas vêm despertando interesse da comunidade médica (MIHOS e SANTANA, 2011). Estes efeitos são atribuídos a vários processos que resultam da inibição da HMG-CoA redutase, incluindo outros efeitos como: anti-inflamação, imunomodulação, neuroproteção (contra doença de Alzheimer; doença de Parkinson), melhoramento do metabolismo ósseo (contra esclerose múltipla) e atividade antitumoral (WANG et al., 2011; ZHANG et al., 2013a). Além das aplicações clínicas, outros estudos demonstraram que a Lovastatina tem efeitos positivos na mitigação de emissões de metano (CH_4) de origem entérico, produzido por arqueas metanogênicas em ruminantes. A produção de metano ruminal tem impacto ambiental negativo e representa entre 2 e 15% de perda de energia na dieta dos animais hospedeiros. Outros agentes atenuadores como ácidos orgânicos, ionóforos, ácidos graxos, e vacinas, foram testados, mas tem uma limitada aplicação, principalmente porque, além de suprimir a produção de metano, diminuem a digestibilidade de nutrientes, tendo um efeito negativo sobre a saúde humana e animal, ou não sendo economicamente aceitáveis (JAHROMI et al., 2012; WOLIN e MILLER, 2006).

Os produtos de origem natural são de grande importância na descoberta de fármacos e desenvolvimento de medicamentos para o tratamento de diferentes tipos de doenças, sendo os fungos e os actinomicetes as fontes principais da área microbiológica (HARVEY, 2008). Muitas vezes estes tipos de compostos são biologicamente mais amigáveis, devido a sua co-evolução com os locais alvos em sistemas biológicos, isto como consequência das interações entre os organismos e o seu ambiente (MISHRA e TIWARI, 2011). Recentemente, os esforços de pesquisas de produtos naturais perderam popularidade em muitas das principais empresas farmacêuticas e, em alguns casos, foram substituídas pela triagem de alto rendimento de compostos, e a disponibilidade de bibliotecas de compostos gerados por química combinatória (GULLO e HUGHES, 2005). Esta perda de interesse poderia ser atribuída ao enorme esforço e despesa que é necessário para escolher uma fonte biológica, isolar os compostos ativos, decifrar suas estruturas, e começar o longo caminho para o

desenvolvimento de produtos (HARVEY, 2008; STROBEL e DAISY, 2003). Segundo Rishton (2008), a triagem de produtos naturais tem sido considerada por muitos como impraticável e obsoleta na arena da triagem bioquímica moderna, no entanto deve-se salientar que os produtos naturais oferecem uma diversidade incontável de estruturas químicas inigualáveis, cujo efeito pode ser melhorado mediante o uso de processos químicos (STROBEL e DAISY, 2003).

Atualmente há uma chamada geral para o desenvolvimento de novos antibióticos, agentes quimioterápicos e drogas mais eficazes no tratamento de infecções negligenciadas, o que é de especial interesse no Brasil, a nação do hemisfério ocidental líder em termos do número de seus cidadãos vivendo com doenças tropicais negligenciadas (20 milhões), como a doença de Chagas, leishmaniases em suas duas formas (cutânea e visceral), esquistossomose, filariose linfática, lepra e malária (HOTEZ e FUJIWARA, 2014).

Em vista da importância que representam as estatinas em diversas áreas, o presente projeto tem como base os resultados prévios obtidos na tese de Doutorado de Rojas (2010), realizada no Laboratório de Bioprodutos do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da Universidade de São Paulo (USP). Neste trabalho foram triados fungos isolados de cana de açúcar, selecionando um grupo em particular pela presença de sequências similares a genes policetídeo sintetase (PKS), especificamente do grupo monofilético dos PKS envolvidos na produção de policetídeos reduzidos, como a Lovastatina. Os resultados ofereceram fortes indícios quanto à possibilidade de produzir estatinas, especialmente a Lovastatina, razão pela qual pretende-se avaliar a capacidade dos fungos filamentosos selecionados para produzir este tipo de molécula, assim como avaliação da co-produção de compostos antimicrobianos, considerando que nos processos biológicos podem ser produzidos diferentes tipos de compostos simultaneamente.

5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Com base nos resultados obtidos na avaliação da capacidade de produção de estatinas por os fungos filamentosos *Saccharicola* sp. (CBMAI 1030); *Fusarium* sp. (CBMAI 1015); *Trichoderma koningiopsis* (CBMAI 1018); *Aspergillus flavus* (CBMAI 1023) e *Penicillium pinophilum* (CBMAI 1022) mediante um cultivo em semi-sólido, determinou-se que nas condições de cultivo utilizadas neste estudo os fungos avaliados não produzem este tipo de moléculas.

Ao não ser possível separar a biomassa fúngica do substrato dos cultivos (farelo de trigo), não foi possível determinar se os compostos produzidos pelos fungos poderiam gerar um efeito antiparasitário. É por isso que sugere-se modificar as condições de cultivo dos fungos de tal forma que no momento da extração dos metabolitos o substrato utilizado não esteja presente. Isto também vai contribuir na etapa de purificação das frações de interesse. De igual forma, sugere-se modificar o sistema de solventes visando extrair um espectro maior de metabolitos, levando em conta que neste estudo só foi utilizado um único sistema de extração, focado na extração das moléculas alvo, as estatinas. É importante ressaltar que em estudos prévios, os extratos do grupo de fungos selecionados cultivados em meio líquido, apresentaram atividade antimicrobiana sobre bactérias e fungos.

Destacam-se os resultados obtidos nos testes de atividade antiparasitária do extrato de farelo de trigo, especialmente os resultados da atividade sobre as formas epimastigota e tripomastigota de *T. cruzi*, considerando que é o agente causal de uma doença negligenciada que precisa de novas alternativas para ser tratada, e o farelo de trigo apesar de ser um substrato amplamente estudado, não há estudos descrevendo o efeito obtido, portanto poderia ser um possível objeto de estudo na busca de compostos com atividade antiparasitária.

A pesar das dificuldades de trabalhar com produtos naturais, este tipo de produtos é de grande importância para a expansão da diversidade de compostos químicos, assim como a geração de produtos de alto impacto, lembrando que tem sido a principal fonte de moléculas para o desenvolvimento de drogas para diferentes usos terapêuticos. Esta variedade de compostos está diretamente relacionada com a biodiversidade, e o Brasil, país imensamente biodiverso, tem um grande potencial de bioprospecção.

REFERÊNCIAS*

- ALBERTS, A. Discovery, biochemistry and biology of Lovastatin. **The American Journal of Cardiology**, v. 62, p. 10J–15J, 1988.
- APPRICH, S.; TIRPANALAN, Ö.; HELL, J.; REISINGER, M.; BÖHMDORFER, S.; SIEBENHANDL-EHN, S.; NOVALIN, S.; KNEIFEL, W. Wheat bran-based biorefinery 2: Valorization of products. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, p. 222–231, 2014.
- ARRUDA, D.; D’ALEXANDRI, F.; KATZIN, A.; ULIANA, S. Antileishmanial Activity of the Terpene Nerolidol. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 5, p. 1679–1687, 2005.
- ARRUDA, D.; MIGUEL, D.; YOKOYAMA-YASUNAKA, J.; KATZIN, A.; ULIANA, SILVIA. Inhibitory activity of limonene against Leishmania parasites in vitro and in vivo. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 63, p. 643–649, 2009.
- BAÑOS, J.; TOMASINI, A.; SZAKÁCS, G.; BARRIOS-GONZÁLEZ, J. High lovastatin production by *Aspergillus terreus* in solid-state fermentation on polyurethane foam: An artificial inert support. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 108, n. 2, p. 105–110, 2009.
- BARRIOS-GONZALES, J. Solid-state fermentation: Physiology of solid medium, its molecular basis and applications. **Process Biochemistry**, v. 47, p. 175–185, 2012.
- BARRIOS-GONZALES, J.; MIRANDA, R. Biotechnological production and applications of statins. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, p. 869–883, 2010.
- BARRIOS-GONZALES, J.; MIRANDA, R. Lovastatin biosynthetic genes of *Aspergillus terreus* are expressed differentially in solid-state and in liquid submerged fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 79, p. 179–186, 2008.
- BERN, C. Chagas’ Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 373, p. 456–466, 2015.
- BIZUKOJC, M.; PAWLAK, M.; BORUTA, T.; GONCIARZ, J. Effect of pH on biosynthesis of lovastatin and other secondary metabolites by *Aspergillus terreus* ATCC 20542. **Journal of Biotechnology**, v. 162, p. 253–261, 2012.
- BŁASZCZYK, L.; POPIEL, D.; CHEŁKOWSKI, J.; KOCZYK, G.; SAMUELS, G.; SOBIERALSKI, K.; SIWULSKI, M. Species diversity of *Trichoderma* in Poland. **Journal of Applied Genetics**, v. 52, p. 233–243, 2011.
- BOSCARDIN, S.; TORRECILHAS, A.; MANARIN, R.; REVELLI, S.; REY, E.; TONELLI, R.; SILBER, A. Chagas’ disease: an update on immune mechanisms and therapeutic strategies. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 14, n. 6B, p. 1373–1384, 2010.

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

CABRAL, M.; FIGUEROA, L.; FARÍÑA, J. Synergistic antifungal activity of statin–azole associations as witnessed by *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida utilis* bioassays and ergosterol quantification. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 30, n. 1, p. 31–38, 2013.

CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSET, J. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, p. 615–631, 2009.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**; Approved Standard-Third Edition, M27-A3, 2008.

CORONA, L.; MENA, S.; RINCÓN, S.; RODRÍGUEZ, L.; PÉREZ, A.; SHIRAI, K.; ZAPATA, A. Biocontrol potential and polyphasic characterization of novel native *Trichoderma* strains against *Macrophomina phaseolina* isolated from sorghum and common bean. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 80, p. 167–177, 2008.

CUNNINGHAM, L.; KAZAN, B.; KUWAHARA, S. Effect of long-chain fatty acids on some trypanosomatid flagellates. **Journal of General Microbiology**, v. 70, n. 3, p. 491–496, 1972.

DESGRANGES, C.; VERGOIGNAN, C.; GEORGES, M.; Durand, A. Biomass estimation in solid state fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p. 200–205, 1991.

DAMASCENO, F.; BARISON, M.; PRAL, E.; PAES, L.; SILBER, A. Memantine, an antagonist of the NMDA glutamate receptor, affects cell proliferation, differentiation and the intracellular cycle and induces apoptosis in *Trypanosoma cruzi*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 2, p. 2717, 2014.

DESJEUX P. Leishmaniasis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 692, 2004.

EL-SHAMI, S.; EL-MALLAH, M.; HASSANEIN, M.; ABDEL-RAZEK, A. Elucidation of polynutrients and fatty acid patterns of wheat germ oil extracted by. **Journal of Applied Sciences Research**, v.7, n.12, p. 1840–1846, 2011.

FABIANE, K.; FERRONATTO, R.; SANTOS, A.; ONOFRE, S. Physicochemical characteristics of the essential oils of *Baccharis dracunculifolia* and *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n. 2, p. 197–203, 2008.

FRIEDRICH, J.; ZUZEK, M.; BENCINA, M.; CIMERMAN, A.; STRANCAR, A.; RADEZ, I. High-performance liquid chromatographic analysis of mevinolin as mevinolinic acid in fermentation broths. **Journal of Chromatography A**, v. 704, p. 363–367, 1995.

GEHRKE, S.; PINTO, E.; STEVERDING, D.; PLEBAN, K.; TEMPONE, A.; HIDER, R.; WAGNER, G. Conjugation to 4-aminoquinoline improves the anti-trypanosomal activity of Deferiprone-type iron chelators. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 3, p. 805–813, 2013.

GRECCO, S.; FÉLIX, M.; LAGO, J.; PINTO, G.; TEMPONE, A.; ROMOFF, P.; FERREIRA, J.; SARTORELLI, P. Anti-trypanosomal phenolic derivatives from *Baccharis uncinella*. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 2, p. 171–173, 2014.

GULLO, V.; HUGHES, D. Exploiting new approaches for natural product drug discovery in the biotechnology industry. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 2, n. 3, 2005.

GYETVAI, A.; EMRI, T.; TAKACS, K.; DERGEZ, T.; FEKETE, A.; PESTI, M.; POCSI, I.; LENKEY, B. Lovastatin possesses a fungistatic effect against *Candida albicans*, but does not trigger apoptosis in this opportunistic human pathogen. **Federation of European Microbiological Societies Yeast Research**, v. 6, p. 1140–1148, 2006.

HARVEY, A. Natural products in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 13, 2008.

HÖLKER, U.; HÖFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, p. 175–186, 2006.

HOLZGRABE, U.; DIEHL, B.; WAWER, I. NMR spectroscopy in pharmacy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 17, p. 557–616, 1998.

HOTEZ, P.; FUJIWARA, R. Brazil's neglected tropical diseases: an overview and a report card. **Microbes and Infection**, v. 16, p. 601–606, 2014.

HU, T.; ZHOU, Y.; DAI, L.; WANG, Y.; LIU, D.; ZHANG, J.; LIU, H. Enhanced cellulase production by solid state fermentation with polyurethane foam as inert supports. **Procedia Engineering**, v. 18, p. 335–340, 2011.

JAHROMI, M.; LIANG, J.; HO, Y.; MOHAMAD, R.; GOH, Y.; SHOKRYAZDAN, P. Lovastatin production by *Aspergillus terreus* using agro-biomass as substrate in solid state fermentation. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, p. 1–11, 2012.

JUNG, G.; UDDIN, S.; KWON, K.; CHUN, B. Comparison of supercritical and near-critical carbon dioxide extraction of carotenoid enriched wheat bran oil. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 45, p. 7702–7709, 2010.

KANEKO, Y.; FUKAZAWA, H.; OHNO, H.; MIYAZAKI, Y. Combinatory effect of fluconazole and FDA-approved drugs against *Candida albicans*. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 19, p. 1141–1145, 2013.

KESPER, N.; DE ALMEIDA, K.; STOLF, A.; UMEZAWA, E. Immunoblot analysis of trypanomastigote excreted-secreted antigens as a tool for the characterization of *Trypanosoma cruzi* strains and isolates. **Journal of Parasitology**, v. 86, p. 862–867, 2000.

LIU, G.; VELLUCCI, V.; STEPHANIE, K.; HOSTETTER, M. Simvastatin Inhibits *Candida albicans* Biofilm *in vitro*. **Pediatric Research**, v. 66, n. 6, p. 600–604, 2009.

LOCCI, E.; LACONI, S.; POMPEI, R.; SCANO, P.; LAI, A.; MARINCOLA, F. Wheat bran biodegradation by *Pleurotus ostreatus*: A solid-state Carbon-13 NMR study. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4279–4284, 2008.

MACREADIE, I.; JOHNSON, G.; SCHLOSSER, T.; MACREADIE, P. Growth inhibition of *Candida* species and *Aspergillus fumigatus* by statins. **Federation of European Microbiological Societies, Letters**, v. 262, p. 9–13, 2006.

MIHOS, C.; SANTANA, O. Pleiotropic effects of the HMG-CoA reductase inhibitors. **International Journal of General Medicine**, v. 4, p. 261–271, 2011.

MIRANDA, R.; GOMEZ-QUIROZ, L.; MEJIA, A.; BARRIOS-GONZALEZ, J. Oxidative state in idiophase links reactive oxygen species (ROS) and lovastatin biosynthesis: Differences and similarities in submerged- and solid-state fermentations. **Fungal Biology**, v. 117, p. 85–93, 2013.

MISHRA, B.; TIWARI, V. Natural products: An evolving role in future drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 4769–4807, 2011.

LOPES, F.; STEINDORFF, A.; GERALDINE, A.; BRANDAO, R.; MONTEIRO, V.; JUNIOR, M.; COELHO, A.; ULHOA, C.; SILVA, R. Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* strains isolated from common bean crops in the Brazilian Cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fungal biology**, v. 116, p. 815–824, 2012.

OSMAK, M. Statins and cancer: Current and future prospects. **Cancer Letters**, v. 324, p. 1–12, 2012.

PANSURIYA, R.; SINGHAL, R. Response surface methodology for optimization of production of lovastatin by solid state fermentation. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 164–172, 2010.

PEI-LIAN, W.; ZHI-NAN, X.; PEI-LIN, C. Lovastatin production by *Aspergillus terreus* in solid-state fermentation. **Journal of Zhejiang University SCIENCE A**, v. 8, n. 9, p. 1521–1526, 2007.

PRAVEEN V.; SAVITHA J. Solid state fermentation: An effective method for Lovastatin production by fungi over submerged fermentation. **Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 2, p. 15–21, 2012.

PRÜCKLER, M.; SIEBENHANDL-EHN, S.; APPRICH, S.; HÖLTINGER, S.; HAAS, C.; SCHMID, E.; KNEIFEL, W. Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of wheat bran and strategies of functionalization. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, p. 211–221, 2014.

QUINTERO, C.; ATANASOVA, L.; MOLANO, E.; GAMS, W.; ZELAZOWSKA, M.; THEELEN, B.; MULLER, W.; BOEKHOUT, T.; DRUZHININA, I. DNA barcoding survey of *Trichoderma* diversity in soil and litter of the Colombian lowland Amazonian rainforest reveals *Trichoderma strigosellum* sp. nov. and other species. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 104, p. 657–674, 2013.

QUEVEDO, B.; NARVAÉZ, P.; PEDROZA, A.; VELÁSQUEZ, M. Degradation of *Chrysanthemum (Dendranthema grandiflora)* Wastes by *Pleurotus ostreatus* for the Production of Reducing Sugars. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 17, p. 1103–1112, 2012.

RAZINGER, J.; LUTZ, M.; SCHROERS, H.; PALMISANO, M.; WOHLER, C.; UREK, G.; GRUNDER, J. Direct plantlet inoculation with soil or insect-associated fungi may control cabbage root fly maggots. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.120, p. 59–66, 2014.

REIMÃO, J.; MIGOTTO, A.; KOSSUGA, M.; BERLINCK, R.; TEMPONE, A. Antiprotozoan activity of Brazilian marine cnidarian extracts and of a modified steroid from the octocoral *Carijoa riisei*. **Parasitology Research**, v. 103, n. 6, p.1445–50, 2008.

REIS, T. **Micobiota e ocorrência de micotoxinas em amostras de castanha-do-Brasil provenientes de diferentes estados brasileiros**. 2014. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo 2014.

RISHTON, G. Natural Products as a Robust Source of New Drugs and Drug Leads: Past Successes and Present Day Issues. **The American Journal of Cardiology**, v. 101, n. 10A, 2008.

ROJAS, J. **Prospecção de genes biossintéticos de policetídeos a partir de fungos isolados de cana de açúcar**. 2010. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

ROZE, L.; MAHANTI, N.; MEHIGH, R.; MCCONNELL, D.; LINZ, J. Evidence That MRas1 and MRas3 Proteins Are Associated with Distinct Cellular Functions during Growth and Morphogenesis in the Fungus *Mucor racemosus*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 28, p. 171–189, 1999.

ROZE, L.; LINZ, J. Lovastatin Triggers an Apoptosis-like Cell Death Process in the Fungus *Mucor racemosus*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 25, p. 119–133, 1998.

SAMUELS, G.; DODD, S.; LU, B.; PETRINI, O.; SCHROERS, H.; DRUZHININA, I. The *Trichoderma koningii* aggregate species. **Studies in Mycology**, v. 56, p. 67–133, 2006.

SANTOS, L.; CAVALHEIRO, A.; TEMPONE A.; CORREA D.; ALEXANDRE T.; QUINTILIANO N.; RODRIGUES-OLIVEIRA A.; OLIVEIRA-SILVA D.; MARTINS R.; LAGO J. Antitrypanosomal Acetylene Fatty Acid Derivatives from the Seeds of *Porcelia macrocarpa* (Annonaceae). **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 8168–8180, 2015.

SANTOS, A.; GARCÍA, M.; COTES, A.; VILLAMIZAR, L. Efecto de la formulación sobre la vida útil de bioplaguicidas a base de dos aislamientos colombianos de *Trichoderma koningiopsis* Th003 y *Trichoderma asperellum* Th034. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 29, n. 3, p. 150–156, 2012.

SAMIEE, S.; MOAZAMI, N.; HAGHIGHI, S.; MOHSENI, F.; MIRDAMADI, S.; BAKHTIARI, M. Screening of Lovastatin Production by Filamentous Fungi. **Iranian Biomedical Journal**, v. 7, n. 1, p. 29-33, 2003.

SAXENA, A.; RAGHUWANSHI, R.; SINGH, H. *Trichoderma* species mediated differential tolerance against biotic stress of phytopathogens in *Cicer arietinum* L. **Journal of Basic Microbiology**, v. 55, p. 195–206, 2015.

SCHACHTER, M. Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 19, p. 117–125, 2004.

SCHMIDT, C.; FURLONG, E. Effect of particle size and ammonium sulfate concentration on rice bran fermentation with the fungus *Rhizopus oryzae*. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 36–41, 2012.

STROBEL, G.; DAISY, B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, p. 491–502, 2003.

SUN, R.; LIU, Z.; FU, K.; FAN, L.; CHEN, J. *Trichoderma* biodiversity in China. **Journal of Applied Genetics**, v. 53, p. 343–354, 2012.

URBINA, J. Specific chemotherapy of Chagas disease: Relevance, current limitations and new approaches, **Acta Tropical**, v. 115, p. 55–68, 2010.

VALERA, H.; GOMES, J.; LAKSHMI, S.; GURURAJA, R.; SURYANARAYAN, S.; KUMAR, D. Lovastatin production by solid state fermentation using *Aspergillus flavipes*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 37, p. 521–526, 2005.

WANG, Q.; YAN, J.; CHEN, X.; LI, J.; YANG, Y.; WENG, J.; DENG, D.; YENARI, M. Statins: Multiple neuroprotective mechanisms in neurodegenerative diseases. **Experimental Neurology**, v. 230, p. 27–34, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chagas disease (American trypanosomiasis). Fact sheet, n. 340. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>. Acesso em: 04 Jul. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leishmaniasis. Fact sheet, n. 375. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>. Acesso em: 04 Julho.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cardiovascular diseases. Fact sheet, n. 317. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>. Acesso em: 11 Março 2013.

WOLIN, M.; MILLER, T. Control of rumen methanogenesis by inhibiting the growth and activity of methanogens with hydroxymethylglutaryl-SCoA inhibitors. **International Congress Series**, v. 1293, p. 131–137, 2006.

XIA, X.; LIE, T.; QIAN, X.; ZHENG, Z.; HUANG, Y.; SHEN, Y. Species Diversity, Distribution, and Genetic Structure of Endophytic and Epiphytic *Trichoderma* Associated with Banana Roots. **Microbial Ecology**, v. 61, p. 619–625, 2011.

ZHANG, J.; OSAWA, S.; TAKAYANAGI, Y.; IKUMA, M.; YAMADA, T.; SUGIMOTO, M.; FURUTA, T.; MIYAJIMA, H.; SUGIMOTO, K. Statins directly suppress cytokine production in murine intraepithelial lymphocytes. **Cytokine**, v. 61, p. 540–545, 2013a.

ZHANG, J.; YANG, Z.; XIE, L.; XU, L.; XU, D.; LIU, X. Statins, autophagy and cancer metastasis. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 45, p. 745–752, 2013b.