



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA - REDE BIONORTE**



**PROSPECÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS UTEIS COM
POTENCIAIS TERAPÊUTICOS A PARTIR DE SUBSTRATOS
PRODUZIDOS POR ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA PLANTA
*CANNABIS SATIVA***

ELANNE COSTA GLÓRIA

PALMAS – TO

2024

ELANNE COSTA GLÓRIA

**PROSPECÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS UTEIS COM
POTENCIAIS TERAPÊUTICOS A PARTIR DE SUBSTRATOS
PRODUZIDOS POR ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA PLANTA
*CANNABIS SATIVA***

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Tocantins, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor (a) em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Raphael Sanzio Pimenta

PALMAS – TO

NOVEMBRO /2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

- G562p Glória, Elaine Costa.
Prospecção de Compostos Bioativos Úteis com Potenciais Terapêuticos a partir de substratos produzidos por Fungos Endofíticos Isolados da Planta *Cannabis sativa*. / Elaine Costa Glória. – Palmas, TO, 2024.
180 f.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Doutorado) em Biodiversidade e Biotecnologia, 2024.
Orientador: Raphael Sanzio Pimenta
1. *Cannabis sativa*. 2. Endofíticos. 3. Metabólitos secundários. 4. Avanços científicos e expectativas futuras. I. Título

CDD 660.6

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

ELANNE COSTA GLÓRIA


**PROSPECÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS UTEIS COM
POTENCIAIS TERAPÊUTICOS A PARTIR DE SUBSTRATOS
PRODUZIDOS POR ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA PLANTA
*CANNABIS SATIVA***

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Tocantins, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor (a) em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Raphael Sanzio Pimenta.


Aprovada em 02 / 12 / 2024

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 **RAPHAEL SANZIO PIMENTA**
Data: 26/02/2025 08:35:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Raphael Sanzio Pimenta (Orientador)

Universidade Federal do Tocantins - UFT

Documento assinado digitalmente
 **JOSE LUIZ MARTINS DO NASCIMENTO**
Data: 21/02/2025 07:35:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. José Luiz do Nascimento

Universidade Federal do Pará - UFPA

Documento assinado digitalmente
 **IRLON MACIEL FERREIRA**
Data: 06/03/2025 14:43:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira

Universidade Federal do Amapá - UFAP

Documento assinado digitalmente
 **ERNANE GERRE PEREIRA BASTOS**
Data: 24/02/2025 10:50:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ernane Gerre Pereira Bastos

Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP/ ULBRA

Documento assinado digitalmente
 **SPARTACO ASTOLFI FILHO**
Data: 25/02/2025 18:58:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Spartaco Astolfi Filho

Universidade Federal do Amazonas – UFAM

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, ELANNE COSTA GLÓRIA () autorizo (X) não autorizo a publicação da versão final aprovada de minha Tese de Doutorado intitulada “ **PROSPECÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS UTEIS COM POTENCIAIS TERAPÊUTICOS A PARTIR DE SUBSTRATOS PRODUZIDOS POR ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA PLANTA *CANNABIS SATIVA***” no Portal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Teses da CAPES ou junto à biblioteca da Instituição Certificadora.

Local/Data: Araguaína 31 de outubro de 2024

Documento assinado digitalmente
 ELANNE COSTA GLORIA
Data: 31/10/2024 17:30:25-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

(Elanne Costa Glória)

CPF: 982.167.831-91

RG:412-016

À memória querida do meu amado pai, cujo amor, sabedoria e apoio sempre iluminaram o caminho da minha jornada acadêmica. À minha querida mãe e à minha amada filha, companheiras incansáveis nesta longa e desafiadora jornada de elaboração da tese de doutorado. A presença de vocês foi a inspiração que guiou cada página escrita, cada desafio superado. Dedico este trabalho à família que sempre acreditou em mim, encorajando-me com amor incondicional. Que este trabalho seja um tributo ao legado de meu pai e uma celebração do apoio inabalável da minha mãe e minha filha.

Com todo o meu amor e gratidão, Elanne Costa Glória.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a Deus, cuja graça e providência foram constantes ao longo desta jornada acadêmica. Reconheço a presença de uma forma maior que me fortaleceu nos momentos desafiadores e me guiou na busca do conhecimento.

À minha querida mãe Mariete, cujo amor e sacrifícios foram a luz orientadora em todos os momentos. Sua força e incentivo foram minha inspiração diária. À minha amada filha Clarissa, pela paciência e compreensão durante os momentos em que me dediquei intensamente a esta pesquisa. Seu sorriso e alegria foram o combustível que impulsionou meus esforços. Aos meus irmãos (Hallisson e Elayne), sobrinhos (Amanda, Lis Emanuele, Hallisson Júnior e Breno), cunhada (Sônia Cristiane) pelo apoio constante, encorajamento e compreensão. Cada um de vocês desempenhou um papel único e crucial nessa jornada. Este trabalho é dedicado a vocês, e é um reflexo do amor, apoio e união que compartilhamos como família. Muito obrigada por estarem ao meu lado em cada passo desta jornada.

Quero dedicar um agradecimento especial ao meu amado pai, Lourival, cuja presença e apoio foram inestimáveis ao longo da minha vida e, especialmente, durante a realização desta tese. Seu amor, sabedoria e exemplo moldaram minha jornada acadêmica e pessoal. Infelizmente, no curso deste trabalho, ele partiu, deixando um vazio que palavras não podem preencher. Suas palavras de encorajamento continuam ecoando em minha mente, e a força que ele demonstrou em face das adversidades serviu como uma fonte eterna de inspiração. Embora ele não esteja fisicamente presente para testemunhar a conclusão deste projeto, sei que seu espírito está comigo, guiando-me como sempre fez. Dedico este trabalho à memória amorosa de Lourival, um homem cujo legado vive não apenas em minha tese, mas em todas as áreas da minha vida que ele tocou com seu amor e sabedoria.

À Universidade Federal do Tocantins e ao programa, de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE) pelo desenvolvimento deste trabalho científico e pela oportunidade de qualificação a mim ofertada.

Ao professor Dr. Raphael Sanzio Pimenta pelo seu excepcional suporte e orientação ao longo deste trabalho. As valiosas discussões, revisões, críticas e conselhos fornecidos, que foram fundamentais para o desenvolvimento desta tese. E pelo apoio emocional e motivacional, que foram essenciais durante os desafios enfrentados durante a pesquisa.

À Universidade Federal do Maranhão, ao Departamento de química, laboratório de química de produtos naturais (LQPN), em especial, a coorientação da professora Cláudia

Quintino da Rocha, pela condução do experimento com os perfis obtidos por HPLC – PDA. Além, das sugestões e contribuições para este trabalho.

Aos membros da banca, pelas sugestões e críticas, que desde a qualificação contribuíram para aprimorar a presente pesquisa.

Às profissionais técnicas do Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia (LABMAB), Cristiane Coelho e Márcia Regina Marson, que sempre estiveram disponíveis contribuindo para a que as pesquisas desenvolvidas nesse laboratório continuem sempre indo adiante.

Ao LMGA (Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada) pela oportunidade de conduzir minha pesquisa neste ambiente estimulante e colaborativo. O apoio técnico, os recursos e a atmosfera de inovação fornecidos por este laboratório foram fundamentais para o sucesso deste projeto.

À Prof.^a Dr.^a Juliana Fonseca por todo apoio, incentivo, discussões, críticas e conselhos fornecidos, que foram fundamentais para o desenvolvimento desta tese.

Ao Dr. Ernane Bastos, por todo o apoio, incentivo e colaboração. De forma especial, agradeço pelo auxílio nas análises de biologia molecular.

Aos professores do programa de pós-graduação, por todos os ensinamentos nas disciplinas, pelo incentivo e apoio.

Aos colegas do Programa de Pós-graduação pela parceria e incentivo durante esse período de convivência.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que esse trabalho fosse realizado, meus sinceros agradecimentos.

"Na intricada tapeçaria da vida, a biodiversidade é a teia que tece a trama da existência, enquanto a biotecnologia emerge como a agulha que borda inovações na busca pela coexistência sustentável. Nesta jornada entre a maravilha natural e o progresso científico, que esta tese seja um testemunho do elo indissolúvel entre a riqueza biológica e as promessas da biotecnologia. Que cada descoberta seja um tributo à complexidade da natureza e um passo em direção a um futuro onde a ciência e a diversidade da vida dançam em harmonia. Inspirados pela biodiversidade e impulsionados pela biotecnologia, aspiramos a preservar, entender e inovar, contribuindo para um mundo onde a ciência floresce em equilíbrio com a natureza."

RESUMO

Os extratos da *Cannabis sativa* têm grande importância farmacológica e nutricional, reconhecida por suas propriedades terapêuticas, incluindo atividades anti-inflamatória, antioxidante, analgésica e neuroprotetora, entre outras. Além disso, a planta possui interações com microrganismos endofíticos que contribuem para a produção de uma variedade de compostos bioativos. Este estudo investigou a capacidade de fungos endofíticos isolados de *C. sativa* na produção de canabinoides, substâncias de grande interesse terapêutico, como CBD, CBDA e THC. Foram isolados 63 fungos endofíticos de *C. sativa*, os quais foram agrupados com base em suas características macromorfológicas. A partir de extratos etanólicos desses fungos, foi realizada uma triagem utilizando o teste Fast Blue B, que revelou que 15 extratos produziram canabidiol (CBD) e 4 extratos produziram Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC). A partir desses extratos positivos, foram realizadas técnicas cromatográficas para a obtenção e identificação dos metabólitos, resultando na identificação de moléculas canabinólicas, incluindo CBD e THC, em quatro extratos: CS 6.2 C, CS 3.3 A, CS 4.3 A e CS 4.1 D. Os fungos endofíticos identificados foram *Aspergillus terreus*, *Cladosporium oryzae*, *Aspergillus niger*. A análise cromatográfica confirmou a presença significativa de CBD, CBDA e THC nesses fungos, evidenciando seu potencial para a produção biotecnológica desses compostos. Os resultados sugerem que esses fungos podem ser explorados como uma alternativa sustentável e eficiente à produção convencional de *Cannabis*, com grande aplicabilidade na biotecnologia e no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos e terapêuticos. Este estudo contribui para a compreensão das interações entre *C. sativa* e seus fungos endofíticos, propondo que esses microrganismos possuem um grande potencial para a produção sustentável de substâncias canabinólicas, com vastas perspectivas para o desenvolvimento de produtos voltados à saúde e bem-estar, além de representar uma inovação no campo da biotecnologia aplicada.

Palavras-chave: *Cannabis sativa*. Endofíticos. Metabólitos secundários.

ABSTRACT

The extracts of *Cannabis sativa* have great pharmacological and nutritional importance, recognized for its therapeutic properties, including anti-inflammatory, antioxidant, analgesic, and neuroprotective activities, among others. In addition, the plant interacts with endophytic microorganisms that contribute to the production of a variety of bioactive compounds. This study investigated the ability of endophytic fungi isolated from *C. sativa* to produce cannabinoids, substances of great therapeutic interest, such as CBD, CBDA, and THC. Sixty-three endophytic fungi were isolated from *C. sativa*, which were grouped based on their macromorphological characteristics. Ethanol extracts of these fungi were subjected to screening using the Fast Blue B test, which revealed that 15 extracts produced cannabidiol (CBD) and 4 extracts produced Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC). From these positive extracts, chromatographic techniques were employed to obtain and identify the metabolites, resulting in the identification of cannabinoid molecules, including CBD and THC, in four extracts: CS 6.2 C, CS 3.3 A, CS 4.3 A, and CS 4.1 D. The identified endophytic fungi were *Aspergillus terreus*, *Cladosporium oryzae*, *Aspergillus niger*. Chromatographic analysis confirmed the significant presence of CBD, CBDA, and THC in these fungi, highlighting their potential for the biotechnological production of these compounds. The results suggest that these fungi may be explored as a sustainable and efficient alternative to conventional *C. sativa* production, with great applicability in biotechnology and the development of new pharmaceutical and therapeutic products. This study contributes to the understanding of the interactions between *C. sativa* and its endophytic fungi, proposing that these microorganisms possess great potential for the sustainable production of cannabinoid substances, with vast prospects for the development of products aimed at health and well-being, as well as representing an innovation in the field of applied biotechnology.

Keywords: *Cannabis sativa*. Endophytes. Bioactive metabolites.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

FIGURA 1 - Ilustra a distribuição espacial dos receptores CB1R (canabinoides tipo 1), CB2R (canabinoides tipo 2) e 5-HT1A (serotonina) em regiões cerebrais saudáveis.

FIGURA 2 - Fluxograma para recuperação e seleção do estudo.

FIGURA 3 - Amostras das folhas estudada neste artigo.

FIGURA 4 - Fluxograma da produção dos extratos brutos obtidos de *Cannabis sativa*.

FIGURA 5 -Triagem positivo com os extratos brutos para identificação de canabinoides usando o teste Fast blue b. Coloração vermelho-púrpuro positivo para substâncias canabinólicas.

FIGURA 6 - Resultados das análises de substâncias canabinólicas por cromatografia HPLC dos extratos fúngicos particionados

Tabela 1 - Utilização do CBD (Canabidiol) em Humanos.

Tabela 2 - Descrição macromorfológicas dos endofíticos isolados da *Cannabis sativa* positivos para a produção de substâncias canabinólicas.

Tabela 3. Screening produção de substâncias canabinólicas a partir de endofíticos isolados da folha da *Cannabis sativa*. Nota: CS (*cannabis sativa*); + (positivo para substância); – (Negativo para substância).

LISTA DE SIGLAS

Δ 9-tetrahydrocannabinol	THC
Canabinol	CBN
Canabidiol	CBD
Canabigerol	CBG
Canabicromeno	CBC
Bactérias multirresistentes a medicamentos	MDR
<i>Staphylococcus aureus</i> multirresistentes	MRSA
Concentração inibitória mínima	CIM
Concentração Inibitória Média	IC50
Endocanabinoides	ECS
Anandamida	AEA
2-Araquidonoilglicerol	2-AG
Receptor do sistema endocanabinoides 1	CB1
Receptor do sistema endocanabinoides 2	CB1
Ácido canabigerólico	CBGA
Esclerose múltipla	EM
Ácidos canabidiólicos	CBDA
Sistema nervoso central	SNC
Proteína G de classe A	GPCR
Potencial transitório	TRP
Estresse pós-traumático	TEPT
Cannabigerol	CBG
Síndrome de Dravet	DS
Síndrome de Lennox-Gastaut	LGS
Receptores de potencial transitório	TRP
Receptor acoplado à proteína G	GPCR
Transtorno do Espectro Autista	DEA
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	HPLC
Departamento de Investigações sobre Narcóticos	DENARC
Ágar Dextrose Batata	BDA
Estufa Demanda Bioquímica de Oxigênio	BOD
Sal duplo de cloreto de o-Dianisidina bis (diazotizado) de	Fast Blue B

zinco

Cannabis sativa

CS

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	16
CAPÍTULO I	
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
1.1 Produtos naturais como fontes importantes no processo de descoberta de substâncias com propriedades medicinais.....	21
1.2 <i>Cannabis sativa</i>	27
1.3 Substâncias canabinólicas no sistema nervoso central (SNC)	30
1.4 Endofíticos e Potencial para produzir metabólitos bioativos	33
REFERÊNCIAS.....	35
CAPÍTULO II: PROPRIEDADES BIOLÓGICAS E APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS DO CANNABIDIOL.....	
2.1 Introdução	42
2.2 Materiais e Métodos.....	44
2.3 Resultados e discussão	45
2.4 Considerações Finais	55
REFERÊNCIAS.....	56
CAPÍTULO III: PERFIL CROMATOGRÁFICO DE EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE PLANTAS DE CANNABIS SATIVA. 59	
3.1 Introdução.....	61

3.2 Materiais e Métodos.....	61
3.3 Resultados e DISCUSSÃO	66
3.4 Considerações	85
REFERÊNCIAS.....	87
CAPÍTULO IV: USO DE SUSBTÂNCIAS CANABINÓIDES PARA FINS MEDICINAIS: AVANÇOS CIENTÍFICOS E PERSPECTIVAS FUTURAS	91
4.1 Introdução.....	94
4.2 Avanços científicos recentes	95
4.3 Tendências emergentes.....	99
4.4 Pesquisas futuras.....	99
4.5 Gaps e desafios para o avanço científico.....	100
4.6 Padrões de Qualidade.....	101
4.7 Mecanismos de ação dos canabinoides.....	102
4.8 Metodologia	106
4.9 Resultados e discussão.....	107
Considerações finais	115
DISCUSSÃO INTEGRATIVA	120
CONCLUSÃO DA TESE	121
REFERÊNCIAS.....	124
ANEXOS	128