

Substâncias bioativas produzidas pelo fungo endofítico AM-04 isolado das folhas de *Alibertia macrophylla* (Rubiaceae).

Camila M. Oliveira¹ (PG), Ângela R. Araújo¹ (PQ), Vanderlan da S. Bolzani¹ (PQ), Mariana Carrara Cafêu¹ (PG), Geraldo Humberto Silva¹ (PG).

¹Instituto de Química, UNESP, Araraquara, SP

Palavras Chave: Fungo endofítico, *Alibertia macrophylla*.

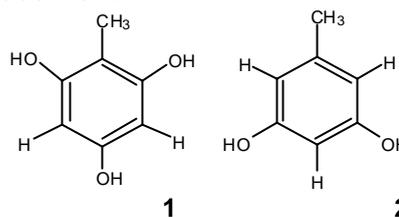
Introdução

Dentro das perspectivas de obtenção de substâncias potencialmente bioativas de fungos endofíticos associados a espécies vegetais de cerrado, *A. macrophylla* foi selecionada para estudo dos fungos endofíticos associados, uma vez que em estudos fitoquímicos realizados pelo NuBBE, foram isoladas substâncias que apresentaram atividade frente aos fungos *Aspergillus niger*, *Cladosporium sphaerospermum* e *Colletotrichum gloeosporioides*¹. Em uma triagem preliminar foi constatado que os fungos endofíticos associados a esta espécie vegetal também produzem metabólitos com atividade antifúngica, frente aos fungos fitopatogênicos, *Cladosporium sphaerospermum* e *Cladosporium cladosporioides*. Estas observações associadas ao fato que endófitos podem produzir as mesmas substâncias que a planta hospedeira², nos direcionou para o estudo químico e biológico dos fungos endofíticos associados a *A. macrophylla*.

Resultados e Discussão

O isolado fúngico codificado como AM-04 foi isolado de folhas saudáveis de *A. macrophylla*, coletadas na Estação Ecológica Experimental de Mogi-Guaçu. Segmentos destas folhas foram submetidos a tratamento convencional para o isolamento dos fungos endofíticos, obtendo-se quatro linhagens puras, que foram cultivadas em 400 mL de meio líquido PDB por 28 dias. Após o cultivo, os caldos fermentados foram filtrados e submetidos à extração com AcOEt, fornecendo os respectivos extratos brutos. Estes foram submetidos a uma triagem para avaliação do perfil químico por RMN¹H e CLAE-DAD e da bioatividade frente aos fungos fitopatogênicos *C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum*. Estes procedimentos permitiram selecionar o isolado AM-04 para o início do estudo químico biomonitorado mediante o bom perfil químico e bioatividade frente aos fungos testados. O isolado fúngico foi repicado no meio de cultura PDA e após sete dias, foi inoculado no meio sólido milho (previamente esterilizado), e cultivado por 21 dias a seguir foi triturado e extraído com metanol, após evaporação do solvente obteve-se o extrato bruto. Este foi particionado com Hex/ACN (objetivando eliminação das graxas), fornecendo, os extratos Hexânico e

ACN. O extrato ACN foi fracionado com AcOEt/H₂O (para eliminação dos açúcares) fornecendo o extrato AcOEt. Como após este fracionamento ainda foi verificada a presença de graxas, optou-se por um novo fracionamento com Hex/ACN, o que forneceu o extrato ACN-2. Este foi fracionado em coluna com sílica C18 e H₂O/ACN em gradiente de polaridade, obtendo-se dez frações (AM-04 A-J). As frações AM-04-B e D forneceram duas substâncias puras 2,4,6-trihidroxitolueno (**1**) e orcinol (5-metilresorcinol) (**2**) que tiveram as estruturas elucidadas por métodos espectroscópicos de RMN ¹H e ¹³C 1D e 2D. Ensaio preliminares realizados com β-caroteno, indicaram atividade antioxidante das substâncias **1** e **2**.



Conclusões

A substância **1** já descrita como metabólito de fungo³, apresenta atividade antioxidante comparável aos padrões trolox e ácido ascórbico⁴. A substância **2**, também descrita como produto de fungo⁵, foi isolado de plantas e líquens e apresenta atividade antibacteriana e antifúngica⁶. Estes resultados permitem sugerir que estas substâncias estejam exercendo um papel na relação mutualista entre o endófito AM-04 com *A. macrophylla*, protegendo-a de possíveis fitopatógenos, como fungos e bactérias, uma vez que na ocasião da coleta da espécie vegetal, esta se apresentava saudável.

Agradecimentos

A FAPESP pela bolsa e apoio financeiro concedido.

¹BRAGA, M. R.; YONG, M. C. N. DIETRICH, S. M. C.; GOTTLIEB, O. R.; BOLZANI, S. V. *Phytochemistry*, 1992, 31, 3433 e referências citadas.

²STROBEL, G. A. et al. *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 257.

³NIELSEN, K. F.; SMEDSGAARD, J. *Journal of Chromatography A*, **2003**, 1002, 111.

⁴BHARATE, S.B.; CHAUTHE, S.K.; BHUTANI, K. K.; SINGH, I.P. *Aust. J. Chem.*, **2005**, 58, 551.

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

⁵TULP, M.; BOHLIN, L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2005**, 13, 5279.

⁶Min, Tae-Jin; Bae, Kang-Gyu. *Journal of the Korean Chemical Society*, **1996**, 40, 623.