Metabólitos produzidos por *Phomopsis cassiae*, um fungo endofítico isolado de *Cassia spectabilis* (DC) Irwin et Barn

Lisinéia Maria Zanardi[1] (PG)[*], Geraldo Humberto Silva[1] (PQ), Helder Lopes Teles[1] (PQ), Vanderlan da Silva Bolzani[1] (PQ), Ludwig H. Pfening[2] (PQ) e Angela Regina Araujo[1] (PQ)

[1]*NuBBE – Núcleo de Biossíntese, Bioensaios e Ecofisiologia de Produtos Naturais, Instituto de Química – UNESP – Araraquara, SP*

[2]*Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*

lisineia@posgrad.iq.unesp.br

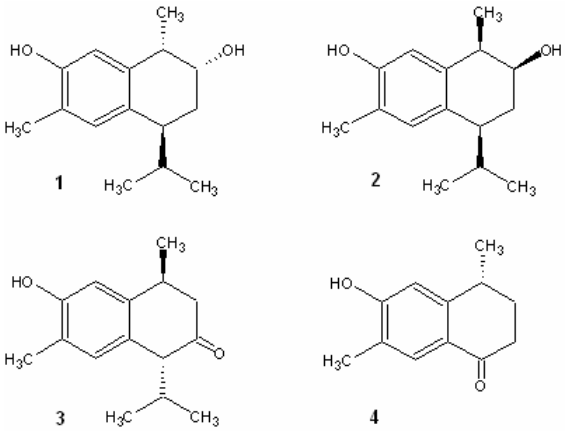
Palavras Chave: *Fungo endofítico, Phomopsis cassiae, Cassia spectabilis*

Introdução

O fungo endofítico *Phomopsis cassiae*, isolado de *Cassia spectabilis* (sin. *Senna spectabilis*) (DC) Irwin et Barn (Leguminoseae), mostrou-se um excelente produtor de metabólitos novos e bioativos, quando cultivado no meio liquido PDB[1,2]. Considerando que entre todos os organismos vivos, os microrganismos são os mais versáteis e diversificados em suas exigências nutricionais, houve o interesse em se estudar a produção metabólica de *P. cassiae* no meio líquido Extrato de Malte.

Resultados e Discussão

Folhas jovens e saudáveis de *C.spectabilis* foram submetidas ao processo de esterilização e isolamento de fungos endofíticos, levando a obtenção de sete isolados[1]. O isolado identificado como *Phomopsis cassiae* foi repicado para o meio de cultura sólido PDA e cultivado por sete dias. A seguir foi inoculado em 8,4 L do meio líquido extrato de malte (EM) e cultivado sob aeração (160 rpm) a 25^{o}C, por 28 dias. Após este período, o caldo foi separado do micélio por filtração e submetido à partição com AcOEt, fornecendo 658mg de extrato bruto (EB). Fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel C18 e H_2O/MeOH (90:10 a 100% de MeOH) como eluentes, forneceu 16 frações. A fração EM-Fr.09 foi submetida a $CLAE_{prep.}$ usando H_2O/ACN (50:50 – 30:70, 12 mL min., 25 min.) e forneceu as substâncias **1**, **3** e o estereoisômero inédito **2**. A fração EM-Fr.07 foi submetida a $CLAE_{prep}$. no modo isocrático (H_2O/ACN, 15 mL/min., 50 min.) e forneceu a substância **4**. Estas foram identificadas por técnicas espectrométricas de RMN ^{1}H, ^{13}C 1D e 2D, EM e comparação com a literatura[3,4,5]. A configuração relativa das substâncias **1-3** foram definidas após análise dos espectros NOESY 1D e 2D. Este é o primeiro relato da produção dos terpenos **1-4** por fungos sendo descritos exclusivamente como metabólitos isolados de plantas e corais [3,4,5]. As substâncias **1-4** estão sendo avaliadas para a determinação da atividade antifúngica contra os fungos fitopatogênicos *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum*.



Substâncias produzidas por *Phomopsis cassiae* em extrato de malte

Conclusões

Os resultados encontrados evidenciam que além dos fungos endofíticos serem excelentes produtores de metabólitos secundários, a produção metabólica é dependente do meio de cultivo, uma vez que no crescimento em PDB, foram isoladas substâncias diferentes. Esperamos com este trabalho, estar contribuindo para uma melhor compreensão sobre a relação de microrganismos endofíticos com as espécies vegetais hospedeiras.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa concedida e ao BIOTA-FAPESP pelo auxilio financeiro.

[1]Silva, G.H. 2005. 306p. Tese de doutorado em Química- Instituto de Química –UNESP.

[2]Silva G.H.; Teles H.L.; Trevisan, H. C.; Young M.C.M.; Pfenning, L.H.; Eberlin, M.N.; Haddad, R.;Costa Neto, C.M.; Bolzani, V.S.; and Araujo, A.R.; *Journal of Brazilian Chemical Society* **2005**, *6B*, 1463.

[3]Bohlmann, F.; Zdero, C. *Phytochemistry* **1979**, *18*, 1185.

[4]Bowden, B.F.; Coll, J.C.; Engelhardt, D.M.T.; White, A.H. *Aust. J. Chem*. **1986**, *39*, 103.

[5]Wu, T.S.; Tsai, Y.L.; Damu, A.G.; Kuo, P.C.; Wu, P.L. *Journal of Natural Products* **2002**, 65, 1522.