

## Bioprospecção de microfungos marinhos com potencial antibacteriano

Carla A. da Silva<sup>1\*</sup> (PG), Larissa M. Rodrigues<sup>2</sup> (IC), Gisela L. da Costa<sup>1</sup> (PQ), Jussara P. Barbosa<sup>1</sup> (PQ), Rosângela de A. Epifânio<sup>2</sup> (PQ), Kátia F. Rodrigues<sup>2</sup> (PQ). e-mail: casilva@ioc.fiocruz.br

<sup>1</sup>Laboratório de Taxonomia, Bioquímica e Bioprospecção de Fungos, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, RJ; <sup>2</sup>Instituto de Química, UFF, RJ.

**Palavras Chave:** bactericida, fungos marinhos.

### Introdução

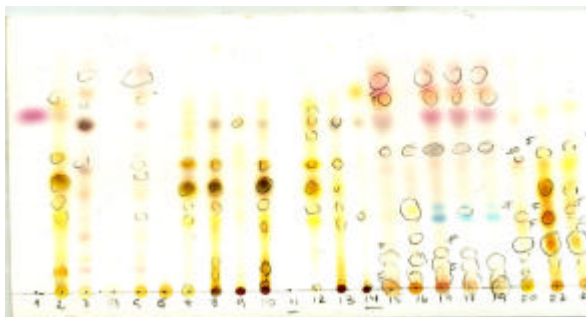
Os microfungos são reconhecidos como uma fonte potencial de metabólitos biologicamente ativos com diversas aplicações, tais como: antibióticos, antiparasíticos e imunossuppressores<sup>1</sup>. Porém, poucas espécies de microfungos são conhecidas, cerca de 45% de um total estimado de 1.5 milhões<sup>2</sup>. Paralelo a isto, existe um incentivo às pesquisas para a busca de novos compostos capazes de combater patógenos resistentes aos medicamentos hoje utilizados<sup>3</sup>.

Em vista de tais fatos nosso grupo analisou a composição química e a atividade antibacteriana “*in vitro*” de extratos brutos produzidos por cinco espécies de microfungos marinhos.

### Resultados e Discussão

As cepas de fungos filamentosos estudadas foram: *Trichoderma* spp (KR 06.01; KR 06.02); *Aspergillus terreus* (KR 06.05) e *Penicillium* spp (Sp1 e Sp2). As fermentações foram realizadas em meio líquido (água do mar artificial e extrato de malte - 13 dias<sup>4</sup>) e os extratos brutos foram obtidos através de partição líquido-líquido em funil de adição e em extrator contínuo, sendo concentrados sob pressão reduzida. Os solventes utilizados foram acetato de etila (AcOEt) e n-butanol (n-BuOH) para KR 06-01 e KR 06-02, e AcOEt para KR 06-05, Sp1 e Sp2.

Para avaliar o perfil químico cromatográfico, os extratos foram submetidos à análise por CCD (CHCl<sub>3</sub>:MeOH 5%) utilizando reveladores gerais e específicos para diferentes classes químicas (Figura 1).



**Figura 1.** CCD dos extratos brutos de microfungos revelado com ácido sulfúrico 50%.

Todas as cepas apresentam presença de alcalóides, terpenos e flavonóides. Somente as cepas KR06.02 e KR06.05 apresentaram traços de peptaibols.

Os extratos brutos foram testados frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (Sa), *Pseudomona aeruginosa* (Pa), *Escherichia coli* (Ec), *Bacillus cereus* (Bc) e *Bacillus subtilis* (Bs) utilizando-se a técnica de bioautografia em placas de cromatografia em camada delgada (CCD) pelo método “*agar overlay*”<sup>5</sup> (Tabela 1). O extrato que se apresentou mais promissor por cepa foi submetido a ensaios para determinação da concentração mínima inibitória<sup>6</sup> (CMI) (Tabela 2).

**Tabela 1:** Resultados da bioautografia em camada delgada pelo método “*agar overlay*” (anexo)

**Tabela 2:** Resultados dos ensaios CMI.

| Cepas    | Concentração mínima inibitória (CMI) (µg/mL) |       |     |       |     |
|----------|----------------------------------------------|-------|-----|-------|-----|
|          | Microrganismos testes                        |       |     |       |     |
|          | Bs*                                          | Bc*   | Sa* | Ec*   | Pa* |
| KR 06.01 | 125                                          | 125   | 250 | 250   | 250 |
| KR 06.02 | 125                                          | 125   | 125 | 250   | 125 |
| KR 06.05 | 250                                          | 250   | 250 | >1000 | 250 |
| Sp1      | 125                                          | 125   | 125 | 125   | 125 |
| Sp2      | 125                                          | >1000 | 250 | 250   | 250 |

\*Bs: *Bacillus subtilis*; Bc: *Bacillus cereus*; Sa: *Staphylococcus aureus*; Ec: *Escherichia coli*; Pa: *Pseudomona aeruginosa*.

Pode-se observar que, com exceção do Sp1 frente a Ec e Sp2 frente a Pa, os demais extratos em AcOEt apresentaram halo de inibição. Com relação aos extratos em n-BuOH da cepa KR06.01, a extração em extrator contínuo é a mais conveniente, pois seu extrato foi o que apresentou atividade. Quanto aos ensaios de CMI a cepa Sp1 mostrou-se mais ativa frente aos microrganismos testados.

### Conclusões

Quanto aos ensaios realizados, os resultados foram bastante promissores, devido à satisfatória atividade contra bactérias Gram positivas e negativas. Em relação ao perfil químico, observou-se uma grande variedade de classes de metabólitos secundários nestes extratos, segundo a análise por CCD.

### Agradecimentos

CNPq, FIOCRUZ/FAPERJ.

<sup>1</sup> Gunatilaka, A.A.L., *J. Nat. Prod.* **2006**, 69, 509-526.

<sup>2</sup> Hawksworth, D.L., *Studies in Mycology* **2004**, 9-17<sup>3</sup> Bennett, J.W; J. *Biotechnol.*; 66:101-107; 1998<sup>4</sup> Bugni, T.S.; Ireland, C.M. *Nat. Prod. Rep.* **2004**, 21, 143-163.<sup>5</sup> Rahalison, L. *et al.*, **1994**, 60, 41-44.<sup>6</sup> NCCLS, documento M7-A6, 6ª Edição, USA, **2003**.**Tabela 1:** Resultados da bioautografia em camada delgada pelo método “agar overlay”.

| Bioautografia em camada delgada (CCD) pelo método “agar overlay” |                          |         |      |                        |      |      |                              |      |      |                         |      |      |                              |      |     |
|------------------------------------------------------------------|--------------------------|---------|------|------------------------|------|------|------------------------------|------|------|-------------------------|------|------|------------------------------|------|-----|
| Cepas                                                            | Microrganismos testes    |         |      |                        |      |      |                              |      |      |                         |      |      |                              |      |     |
|                                                                  | <i>Bacillus subtilis</i> |         |      | <i>Bacillus cereus</i> |      |      | <i>Staphylococcus aureus</i> |      |      | <i>Escherichia coli</i> |      |      | <i>Pseudomona aeruginosa</i> |      |     |
| KR 06.01                                                         |                          | f.a*    | e.c* |                        | f.a. | e.c* |                              | f.a. | e.c* |                         | f.a. | e.c. |                              | f.a. | e.c |
|                                                                  | AcOEt**                  | +       | +    | AcOEt                  | +    | +    | AcOEt                        | +    | +    | AcOEt                   | +    | +    | AcOEt                        | +    | +   |
|                                                                  | BuOH**                   | -       | +    | BuOH                   | -    | +    | BuOH                         | -    | +    | BuOH                    | -    | +    | BuOH                         | -    | +   |
| KR 06.02                                                         |                          | f.a.    | e.c. |                        | f.a. | e.c. |                              | f.a. | e.c. |                         | f.a. | e.c. |                              | f.a. | e.c |
|                                                                  | AcOEt                    | +       | +    | AcOEt                  | +    | +    | AcOEt                        | +    | +    | AcOEt                   | +    | +    | AcOEt                        | +    | +   |
|                                                                  | BuOH                     | n.r.*** | -    | BuOH                   | n.r. | -    | BuOH                         | n.r. | -    | BuOH                    | n.r. | -    | BuOH                         | n.r. | -   |
| KR 06.05                                                         |                          | f.a.    | e.c. |                        | f.a. | e.c. |                              | f.a. | e.c. |                         | f.a. | e.c. |                              | f.a. | e.c |
|                                                                  | AcOEt                    | +       | +    | AcOEt                  | +    | +    | AcOEt                        | +    | +    | AcOEt                   | +    | +    | AcOEt                        | +    | +   |
| Sp1                                                              |                          | f.a.    |      |                        | f.a. |      |                              | f.a. |      |                         | f.a. |      |                              | f.a. |     |
|                                                                  | AcOEt                    | -       |      | AcOEt                  | +    |      | AcOEt                        | +    |      | AcOEt                   | -    |      | AcOEt                        | +    |     |
| Sp2                                                              |                          | f.a.    |      |                        | f.a. |      |                              | f.a. |      |                         | f.a. |      |                              | f.a. |     |
|                                                                  | AcOEt                    | +       |      | AcOEt                  | +    |      | AcOEt                        | +    |      | AcOEt                   | +    |      | AcOEt                        | -    |     |

\*f.a.: extração em funil de adição; e.c.: extração em extrator contínuo.

\*\* AcOEt: acetato de etila; BuOH: n-butanol.

\*\*\*n.r.: não realizado.