

Ensaio para determinação da concentração mínima inibitória (MIC) da substância Brasilamida A produzida pelo fungo *Penicillium* sp.

Taícia P. Fill¹ (PG)*, Edson Rodrigues Filho¹ (PQ)

taicia@gmail.com, edinho@pesquisador.cnpq.br

1. Laboratório de Bioquímica Micromolecular de Microorganismos (LaBioMMI) – UFSCa r- São Carlos-SP

Palavras Chave: *Penicillium*, Brasilamida A, antibiótico

Introdução

A interação entre fungos e plantas tem se mostrado uma importante fonte de substâncias biologicamente ativas. Neste sentido, o fungo *Penicillium* sp. isolado como endofítico de *Melia azedarach* (Meliaceae) tem sido estudado como produtor de amidas bis-fenilpropanoídicas, Brasilamida A e B (Figura 1)¹. Estas substâncias quando testadas frente a larvas do bicho-da-seda, se mostraram bons agentes tremorgênicos². Mais recentemente estas substâncias apresentaram atividade contra a bactéria *Bacillus subtilis* em ensaios realizados no LaBioMMi.

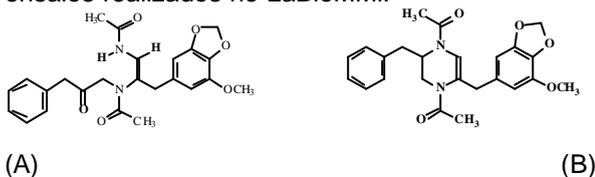


Figura 1: Estruturas moleculares das substâncias Brasilamida A e B respectivamente.

Resultados e Discussão

Em estudos anteriores realizados, verificou-se que a substância Brasilamida A apresentava ação contra a bactéria gram-positiva *Bacillus subtilis*, quando realizados testes de triagem. A partir de então, esta substância foi novamente ensaiada para se medir a concentração mínima inibitória (MIC) em placa de Elisa.

Nas placas de Elisa de 96 furos (Figura 2), foram adicionados 100µL de meio caldo Mueller Hinton em cada uma das cavidades. A seguir, acrescentou-se 100µL da solução da substância Brasilamida A (1000µg/mL) na primeira cavidade das três primeiras colunas da linha A, como observado na figura 2 (colunas 1,2,3) e homogeneizou-se a solução. Após isso, foram realizadas diluições sucessivas, retirando-se 100µL das cavidades 1, 2 e 3 A, transferindo-se esse volume para as cavidades 1, 2 e 3 B, homogeneizando, repetindo esse procedimento até a penúltima cavidade da placa de Elisa, de onde são retirados 100µL e descartados. A última linha da placa foi utilizada como controle do meio usado, não acrescentando nesta, a amostra a ser testada. Por fim, em cada cavidade foram adicionados 5µL da solução bacteriana e incubou-se

a placa à 35°C por 24 horas. A leitura dos resultados pode ser realizada com o corante TTC (cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólico).

O experimento pode ser observado abaixo (Figura 2), e a concentração mínima inibitória para a substância Brasilamida A pode ser verificada como 250µg/mL frente a bactéria *Bacillus subtilis*. Observa-se nas placas de Petri obtidas da semeadura, que esta substância apresenta atividade bacteriostática, uma vez que as bactérias voltam a se multiplicar quando não estão em contato com o composto testado (Figura 3).

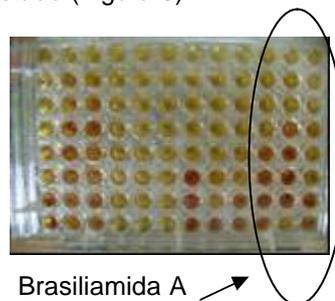


Figura 2: Determinação da MIC para a substância Brasilamida A.



Figura 3: Atividade bacteriostática da substância Brasilamida A.

Embora a atividade encontrada para a substância Brasilamida A seja baixa, inúmeras modificações estruturais podem ser realizadas no intuito de aumentá-la, e dessa maneira, esta substância poderia sugerir ou inspirar a síntese de outros compostos antimicrobianos.

Conclusões

Pode-se a partir dos ensaios em placa de Elisa determinar a MIC da substância Brasilamida A como 250µg/mL e verificou-se para este composto uma atividade bacteriostática, uma vez que as bactérias voltam a se multiplicar.

Agradecimentos

Àos órgãos financiadores FAPESP, CAPES e CNPq

¹ Santos, M. R.G.; Tese de doutorado, programa de Pós-Graduação em Química-UFSCar, 2003,443pp

² Fujita, T.; Makishima, D.;Hayashi, H. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, *66(8)*, 3415