

Detecção *in silico* dos constituintes micromoleculares majoritários presentes no fungo endofítico *Phomopsis stipata* isolado das folhas de *Styrax camporum* Pohl (Styracaceae) usando CG-EM

Denise Ricoy Roperro (PG)*¹, Alberto Camilo Alécio (PQ)¹, José Eduardo de Oliveira (PQ)², Vanderlan da Silva Bolzani(PQ)¹, Ângela Regina Araújo (PQ)¹ e Ian Castro-Gamboa (PQ)¹

¹NuBBE- Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais - Instituto de Química - UNESP, C. P. 355, CEP 14800-900, Araraquara, SP.

²CEMPEQC – Centro de Monitoramento e Pesquisa na Qualidade de Combustíveis, Petróleo e Derivados - Instituto de Química - UNESP, C. P. 355, CEP 14800-900, Araraquara, SP.

*drropero@yahoo.com.br

Palavras Chave: desreplicação, CG-EM, detecção micromolecular *in silico*.

Introdução

Nos últimos anos, o NuBBE (Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais) investe no desenvolvimento de metodologias analíticas de desreplicação, utilizando diversas técnicas acopladas tais como CLAE/DEQ/DAD; EMAR/CLAE-DAD, e CG/EM para acelerar a escolha de extratos brutos pertencentes ao seu banco de extratos. Técnicas analíticas de detecção *in silico* conjugadas aos dados de massas de alta resolução do dicionário de produtos naturais da Chapman & Hall (DNP)¹, vêm sendo incorporadas às metodologias cromatográficas de construção de perfis micromoleculares, auxiliando na seleção apenas dos metabólitos de interesse presentes em matrizes brutas. Os resultados da conjugação dessas análises permitem orientar o pesquisador a investir apenas nos extratos ou frações que possuam alvos interessantes de estudo que, posteriormente, possam ser submetidos a etapas mais dispendiosas como separações cromatográficas em larga escala e uso de técnicas de elucidação espectroscópicas diversas (RMN e EMAR).

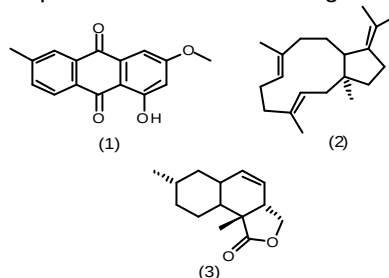
O extrato de diclorometano do fungo endofítico *Phomopsis stipata* cultivado em milho (1,33 g), apresentou promissora atividade antifúngica inibindo o crescimento das linhagens *Cladosporium sphaerospermum* e *C. cladosporioides*, o que despertou o nosso interesse para estudos mais específicos. Devido à grande lipofilicidade e volatilidade do extrato, selecionou-se a técnica CG-EM como ferramenta para a análise dos metabólitos majoritários.

Resultados e Discussão

O extrato diclorometânico de *P. stipata* (2,5 mg) foi analisado via CG-EM, em cromatógrafo a gás Shimadzu QP – 5000, injetor automático 5000 (280 °C), detector por impacto eletrônico (70 eV) no modo positivo (350 °C), gás carreador He, coluna DM5-MS (30m) com vazão de 1 ml/min (20 °C) e temperaturas programadas: 50 °C (3 min.) – 50-295 °C (6 °C/min.) – 295 °C (15 min.).

O espectro de contagem dos íons totais (TIC) gerado pelo EM foi processado, gerando a massa molecular de baixa resolução para cada íon majoritário. Os dados obtidos foram contrapostos com aqueles apresentados na base de dados do DNP. Ainda, para diminuir a faixa dos possíveis candidatos, foram detectadas apenas as moléculas reportadas para o gênero *Phomopsis*.

Dentre a série micromolecular obtida destacam-se um derivado atraquinônico (1), um diterpeno, o dolabellatrieno (2) e um norsesquiterpeno da série dos oblongolídeos (3).



Conclusões

A técnica CG-EM conjugada a abordagem *in silico*, mostrou-se eficiente na detecção dos constituintes majoritários micromoleculares presentes no extrato diclorometânico de *P. stipata*. O método analítico foi rápido e seletivo, auxiliando no processo de desreplicação da matriz. Em andamento, estamos gerando, os perfis de bioatividade antifúngica e antioxidante dos extratos diclorometânico e acetato de etila de *P. stipata* visando detectar as regiões cromatográficas onde se concentra a bioatividade para proceder à separação dos metabólitos de interesse. O uso de outras técnicas espectroscópicas como EMAR e RMN permitirão a confirmação e elucidação estrutural final dos metabólitos detectados.

Agradecimentos

À FAPESP, BIOTA-FAPESP, CAPES e CNPq pelo auxílio à pesquisa e bolsas concedidas.

1. <http://www.chemnetbase.com/>