

Citocalasinas produzidas pelo fungo endofítico *Phomopsis* sp. isolado da *Cassia spectabilis*

Vanessa M. Chapla¹ (PG)*, Lisinéia M. Zanardi (PG)¹, Marcia N. Lopes¹ (PQ), Marcos P. S. Câmara² (PQ), Vanderlan da S. Bolzani¹ (PQ), Dulce H. S. Silva¹ (PQ) e Angela R. Araújo¹ (PQ)

chapla@iq.unesp.br

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

² Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manuel de Medeiros s/n – Dois Irmãos, Recife, PE

Palavras Chave: Fungos endofíticos, *Phomopsis* sp., citocalasina H.

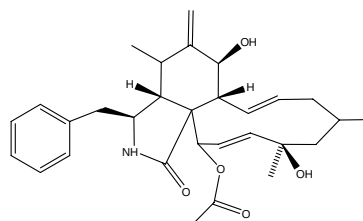
Introdução

Fungos endofíticos são microrganismos que colonizam partes internas de vegetais, sem causa aparente, mantendo uma relação que pode ser neutra, mutualista ou patogênica.¹ Os fungos endofíticos associados com plantas da Mata Atlântica e do Cerrado, tem se mostrado uma fonte de novos metabólitos secundários com interessantes atividades biológicas. O fungo endofítico *Phomopsis* sp. isolado de *Cassia spectabilis* (Leguminosae), foi objeto de prospecção química e biológica e mostrou-se um excelente produtor de metabólitos bioativos. Este trabalho relata o isolamento da citocalasina H e outras que encontram-se em fase de determinação estrutural.

Resultados e Discussão

O fungo *Phomopsis* sp foi isolado dos caules saudáveis de *C. spectabilis* de acordo com o tratamento convencional² e classificado pelo professor Dr. Marcos Câmara da Universidade Federal do Pernambuco. O isolado foi repicado para o meio de cultura sólido PDA e cultivado por sete dias. A seguir foi crescido sob agitação constante e em diferentes meios líquidos (MBD; YM; Ex. Malte; Czapeck; Nutriente) e nos meios sólidos (Milho e Arroz) por 28 dias a 26°C. Após este período, nos meios líquidos, o caldo foi separado do micélio por filtração e submetido à partição com AcOEt (3X); os meios sólidos foram extraídos com MeOH (6X). Os solventes foram retirados por evaporação fornecendo os respectivos extratos brutos (27,7 mg; 36,2 mg; 14,0 mg; 12,0 mg; 22,2 mg; 76,4 mg e 2,0 g). Estes foram submetidos aos ensaios biológicos para avaliação das atividades antifúngica e anticolinesterásica. As bioatividades observadas em todos os extratos brutos, aliados às massas obtidas, ao perfil cromatográfico e químico por CLAE-DAD e RMN de ¹H, respectivamente, permitiram selecionar o meio MBD para cultivo em larga escala. Com o objetivo de isolar as substâncias bioativas, *Phomopsis* sp. foi inoculado em 16,2 L do meio líquido PDB e cultivado a 26°C, por 28 dias. A

seguir o extrato bruto foi obtido como descrito anteriormente, fornecendo 991mg. O fracionamento cromatográfico deste foi realizado em coluna de sílica em fase reversa C18 eluída em H₂O/MeOH (90:10 a 100% de MeOH), obtendo-se 9 frações. A fração 5 forneceu a substância **1** que foi identificada por técnicas espectrométricas de RMN ¹H, ¹³C 1D e 2D e por comparação com a literatura³. Outras citocalasinas foram detectadas em diferentes frações e estão sendo isoladas. A substância **1** apresentou atividade anticolinesterásica e antifúngica frente aos ensaios realizados.



Citocalasina H (**1**)

Conclusões

A citocalasina H já foi isolada do fungo *Phomopsis* sp.⁴ e *Hypoxylon fragiforme*⁵, contudo, este é o primeiro relato do isolamento do fungo proveniente de espécie vegetal do Cerrado e das atividades anticolinesterásica e antifúngica. *Phomopsis* sp., evidenciou uma profícua produção de metabólitos bioativos. Esperamos com este trabalho estar contribuindo para uma melhor compreensão sobre a relação de microrganismos endofíticos com as espécies vegetais hospedeiras.

Agradecimentos

A Capes pela bolsa concedida e ao BIOTA-FAPESP pelo auxílio financeiro.

¹ STROBEL, G. A. et al. *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 257.

² Silva, G.H. 2005. 306p. Tese de doutorado em Química- Instituto de Química –UNESP.

³ TAO, Y., et al. *Magn. Reson. Chem.* **2008**; 46: 501.

⁴ BENO, M. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99 (12), 4123.

⁵ ONDEYKA, J.; et al. *J. Antibiot.* 1992; **45**: 679