

## Biotransformação da (-)-cassina por fungos endofíticos

Lucimar Pinheiro Rosseto<sup>1\*</sup> (PQ), João Batista de Medeiros<sup>1</sup> (PG), Taís Ramos<sup>1</sup> (IC), Luciana de Ávila Santos<sup>1</sup> (PQ), Angela Regina Araujo<sup>1</sup> (PQ), Vanderlan da Silva Bolzani<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais (NuBBE), Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, CP 355, 14801-970, Araraquara-SP, Brasil

\*lucimar.pinheiro@yahoo.com.br

Palavras Chave: Fungos endofíticos, biotransformação, (-)-cassina

### Introdução

Os fungos endofíticos associados à espécies vegetais têm sido objeto de estudo dos pesquisadores do NuBBE nos últimos 9 anos, com resultados promissores. Isso pode ser verificado pelo isolamento de diversos metabólitos secundários bioativos de origem vegetal e microbiana<sup>1,2</sup>. Estes resultados, evidenciam o potencial enzimático destes micro-organismos para a biotransformação de xenobióticos, entre eles, o alcalóide (-)-cassina.

### Resultados e Discussão

Baseados nos resultados de prospecção da atividade biocatalítica realizada pelo nosso grupo de pesquisa, em cerca de 70 fungos endofíticos, nós selecionamos 7 micro-organismos (Tabela 1) para o estudo da biotransformação da (-)-cassina, (-)-1.

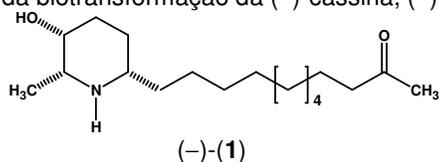


Tabela 1. Fungos endofíticos e suas respectivas espécies vegetais hospedeiras

Fungo endofítico	Planta hospedeira*
<i>Nigrospora sphaerica</i>	<i>Alchornea glandulosa</i>
<i>Schizophyllum commune</i>	<i>Alchornea glandulosa</i>
<i>Phomopsis (Sacc) Sacc</i>	<i>Alchornea glandulosa</i>
<i>Tricoderma viridae</i>	<i>Ocotea corymbosa</i>
<i>Aspergillus versicollor</i>	<i>Piper aduncum</i>
<i>Xylaria sp.</i>	<i>Cupania vernalis</i>
<i>Phomopsis stipata</i>	<i>Styrax camporum</i>

\*Provenientes do bioma Cerrado na região do estado de SP.

Com o objetivo de avaliar o meio de cultura mais adequado ao crescimento dos micro-organismos selecionados, os endófitos inicialmente preservados em água estéril, foram cultivados em placas de Petri contendo dois meios de cultura diferentes: (a) BDA - Batata Dextrose e Ágar e (b) MEA - Extrato de Malte e Ágar. Após incubação a 25°C, por 7 dias verificou-se que todos os fungos apresentaram excelente crescimento quando crescidos em BDA.

Em seguida, realizamos experimentos de acordo com o protocolo das reações de biotransformação tradicionais (meio reacional 40 mL; substrato 0,5 mg/mL; 125 rpm), utilizando células íntegras em

crescimento (**método a**: cultivo em 2 etapas utilizando-se como meio líquido Meio de Batata e Dextrose [MDB] e células em repouso (**método b**: 2g de massa úmida em solução tampão de fosfato estéril a pH 7,5 (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> e KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>).

Todas as reações foram monitoradas por CG-FID nos intervalos de 2, 24, 48, 72 e 96 h. Em cada experimento foram incluídos controles negativo (sem a presença do micro-organismo) e controle microbiano (sem adição de substrato).

Entre os 7 fungos endofíticos, *Phomopsis (Sacc) Sacc* isolado de *Alchornea glandulosa* e *Tricoderma viridae* isolado de *Ocotea corymbosa* apresentaram os melhores resultados na biotransformação de (-)-1. A metabolização de (-)-1 por *Phomopsis sp.* com um tempo de retenção em 16,4 min, como indicado pela análise de CG-FID (**método a**) levou a formação de 2 metabólitos distintos com tempo de retenção em 14,7 e 16,2 min, respectivamente, após 6 dias de reação. O fungo *Tricoderma viridae* também metabolizou (-)-1, a partir de 24h de reação (**método b**), o produto biotransformado apresentou tempo de retenção em 17,4 min. No primeiro caso, a conversão de (-)-1 foi de 100% e no segundo de 80%.

### Conclusões

Os resultados da biotransformação de (-)-cassina nos evidenciaram a formação de três metabólitos. Trabalhos em andamento, quanto ao isolamento e identificação destes compostos permitirão avaliar a possibilidade da obtenção de derivados inibidores de acetilcolinesterase, tais como, o cloridrato de boc-espectralina. Esta substância está atualmente em estudo de fase pré-clínica para o tratamento de Alzheimer<sup>3</sup>.

### Agradecimentos

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

<sup>1</sup>Silva, G.H.; Teles, H.L.; Zanardi, L.M.; Young, M.C.M.; Eberlin, M.N.; Haddad, R.; Pfenning, L.H.; Costa-Neto, C.M.; Castro-Gamboa, I.; Bolzani, V.S.; Araújo, A.R. *Phytochemistry* **2006**, *67*, 1964.

<sup>2</sup>Viegas Jr, C.; da Silva, D.H.; Pivatto, M.; Rezende, A.; Castro-Gamboa, I.; Bolzani, V.S.; Nair, M.G. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 2026.

<sup>3</sup>Viegas Jr. C.; Bolzani, V.S.; de Lacerda Barreiro, E.J.; Castro, N.G.; Young, M.C.M.; Santos, M.R. WO 2006/039767 A1.