

Metabólitos secundários produzidos pelo endófito *Phomopsis* sp. associado a *Senna spectabilis*.

Vanessa M. Chapla¹(PG)*, Lisinéia M. Zanardi¹(PG), Márcia N. Lopes¹(PQ), Dulce H. S. Siqueira¹(PQ), Maria C. M. Young (PQ)², Vanderlan da S. Bolzani¹(PQ) e Angela R. Araújo¹(PQ)

¹NuBBE-Núcleo de Bioensaios, Biosíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais, Instituto de Química-UNESP, Araraquara, SP.

²Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Instituto de Botânica, São Paulo, SP.

*vanichapla@hotmail.com

Palavras Chave: *Phomopsis* sp., *Senna spectabilis*, fungos endofíticos

Introdução

Fungos endofíticos habitam os espaços inter e intracelulares dos tecidos de um hospedeiro vegetal, durante todo ou parte de seu ciclo de vida, sem causar danos aparentes¹. O fungo *Phomopsis* sp. isolado de *Senna spectabilis* mostrou-se um excelente produtor de metabólitos secundários bioativos quando cultivado em meio líquido MDB^{2,3}. Com o conhecimento que dentre todos os organismos vivos os micro-organismos são os mais versáteis na suas exigências nutricionais, houve o interesse de estudar a produção metabólica de *Phomopsis* sp. em milho.

Resultados e Discussão

O fungo endofítico *Phomopsis* sp. foi isolado do caule de *Senna spectabilis* utilizando metodologia descrita⁴. *Phomopsis* sp. foi cultivado em larga escala em meio sólido milho (90g/75mL H₂O em 8 Erlenmeyer de 500mL) estéril por 21 dias a 26°C. Após este período, o meio de cultivo foi submetido a uma extração com MeOH (3x200 mL), fornecendo após evaporação do solvente, o extrato bruto. Este foi submetido a uma partição com ACN e Hex. objetivando a eliminação das graxas oriundas do meio de cultivo, fornecendo o extrato ACN (2,90g) e o extrato Hex. (descartado) O extrato ACN foi submetido a uma CC de sílica gel (eluente CHCl₃:CH₃OH em ordem crescente de polaridade) fornecendo 51 subfrações de (25 mL), que foram reunidas após avaliação por CCDC. A subfração codificada M(18-20) (660,5mg) foi submetida a CLAE_{prep} (Phenyl, H₂O:CH₃OH (60:40 até 0:100% em 40' + 10' em 0:100%, fluxo 10mL.min⁻¹, λ=235nm)) fornecendo a citocalasina H (1) e citocalasina J (2). A subfração M(30) foi recristalizada com CHCl₃ fornecendo 2-hidroxi-alternariol (3). As estruturas das substâncias foram identificadas por RMN 1 e 2 D, espectrometria de massas e comparação com a literatura^{5,6}. Deste mesmo cultivo já haviam sido isolados o alternariol (AOH) e alternariol monometil éter (AME)⁷. Todas as substâncias foram submetidas aos ensaios para avaliação da atividade antifúngica contra os fungos fitopatogênicos *Cladosporium cladosporioides* e

Cladosporium sphaerospermum e atividade anticolinesterásica. Apenas a citocalasina H (1) apresentou atividade com limite de detecção de 25 µg nos ensaios testados. Este é o primeiro relato da substância 3 como produto natural.

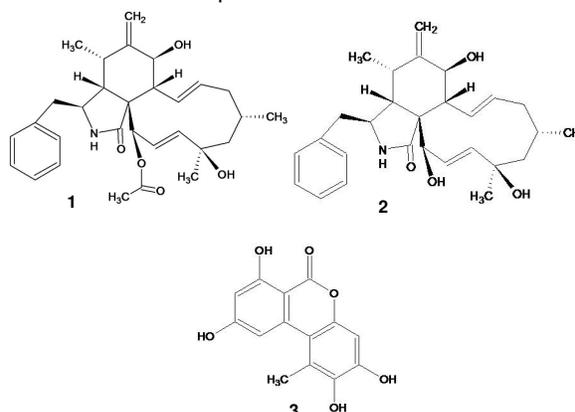


Figura 1. Metabólitos produzidos por *Phomopsis* sp.

Conclusões

O estudo químico do extrato produzido por *Phomopsis* sp. permitiu o isolamento de substâncias diferentes daquelas identificadas no crescimento do fungo em meio líquido MDB, confirmando que a produção metabólica é dependente do meio de cultivo. Esperamos com esse trabalho estar contribuindo para melhor compreensão sobre a relação de micro-organismos endofíticos com as espécies vegetais hospedeiras.

Agradecimentos

À FAPESP, programa Biota-FAPESP pelo auxílio financeiro e à CAPES pela bolsa concedida.

¹ GUNATILAKA, A. A. L. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 509-526.

² CHAPLA, V. M. *et al.* In: BCNP, **2009**.

³ CHAPLA, V. M. *et al.* In: SBQ-nacional, **2009**.

⁴ Silva, G.H. 2005. 306p. Tese de doutorado em Química- Instituto de Química –UNESP.

⁵ IZAWA, Y. *et al.*, *Tetrahedron*, **1989**, *45*, 8, 2323-2335.

⁶ PFEIFFER, E. *et al.*, *Mol. Nutr. Food Res.*, **2007**, *51*, 307-316.

⁷ CHAPLA, V. M. *et al.*, In: SBQ-regional, **2009**.