

## Phomopsis sp. um prolífico produtor de metabólitos especiais

Vanessa M. Chapla<sup>1</sup> (PG)\*, Lisinéia M. Zanardi<sup>1</sup> (PG), Márcia N. Lopes<sup>1</sup> (PQ), Vanderlan S. Bolzani<sup>1</sup> (PQ), Dulce H. S. Silva<sup>1</sup> (PQ) e Angela R. Araujo<sup>1</sup> (PQ).

chapla@iq.unesp.br

<sup>1</sup>NuBBE-Núcleo de Bioensaios, Biosíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais, Instituto de Química-UNESP, Araraquara, SP

Palavras Chave: *Phomopsis* sp., endófito, citocalasina, dicetopiperazinas, diidroisocumarina.

### Introdução

Fungos endófitos habitam os tecidos de um hospedeiro vegetal, durante todo ou parte de seu ciclo de vida. Esses fungos são poucos explorados quimicamente, mesmo sabendo que sua produção metabólica é 73% superior aos demais fungos<sup>1</sup>. Essa alta produtividade pode estar associada a fatores ecológicos<sup>1,2</sup>.

No intuito de conhecer o perfil químico do fungo *Phomopsis* sp. isolado de *Senna spectabilis*, este foi cultivado em 2 meios de cultivo diferentes e os extratos brutos obtidos foram submetidos ao isolamento e identificação dos metabólitos produzidos.

### Resultados e Discussão

*Phomopsis* sp. foi isolado do caule de *S. spectabilis* pela metodologia descrita<sup>3</sup> e cultivado em MDB (16,2L) por 28 dias a 26°C. O caldo foi separado do micélio por filtração e submetido a partição com AcOEt (3X), que após evaporado forneceu o extrato bruto (991,0 mg). Este extrato foi fracionado em CC utilizando sílica de fase reversa (C<sub>18</sub>) e eluição de H<sub>2</sub>O:MeOH (90:10→100% de MeOH) fornecendo 9 frações. Da fração 1 foi identificada a uracila e o ácido nitropropionico. As frações 2 e 3 foram submetidas a CC de sílica gel (40-63µm) utilizando um gradiente de AcOEt:MeOH (2→100% MeOH), fornecendo o tirosol e cinco dicetopiperazinas (1-5)<sup>4</sup>. A fração 5 forneceu a substância 6<sup>5</sup>.

*Phomopsis* sp. foi cultivado em escala ampliada em milho estéril por 21 dias a 26°C, em seguida foi submetido a extração com MeOH (3X), fornecendo o extrato bruto. Este foi submetido à partição com CH<sub>3</sub>CN e Hex, fornecendo os respectivos extratos. O extrato CH<sub>3</sub>CN (2,90g) foi submetido a CC de sílica gel (eluente CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH) fornecendo 31 subfrações codificadas M(1-31), que foram reunidas de acordo com a semelhança do perfil cromatográfico por CCDC. A subfração M(18-20) foi submetida a CLAE<sub>prep</sub> (Fenil, H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>OH (60:40→0:100% em 40' + 10' em 100% de MeOH, fluxo 10mL.min<sup>-1</sup>, λ=235nm) fornecendo a citocalasina 6<sup>6</sup> e 7<sup>6</sup>, 5'-epialtenueno (8)<sup>6</sup> e o alternariol monometil éter (9)<sup>6</sup>. Da fração M(25) obteve-se o alternariol (10)<sup>6</sup> e a nova

diidroisocumarina (11) e da fração M(30) obteve-se o 2-hidroxi-alternariol (12)<sup>6</sup>. As estruturas das substâncias isoladas, foram identificadas e elucidadas por RMN 1 e 2D, espectrometria de massas e comparação com a literatura.

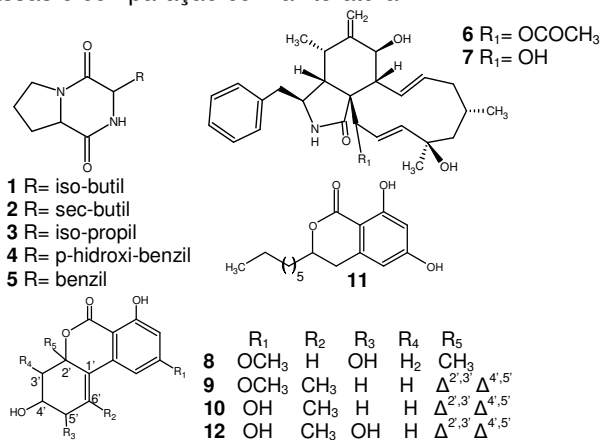


Figura 1. Metabólitos produzidos por *Phomopsis* sp.

É o primeiro relato de dicetopiperazinas produzidas por endófitos do gênero *Phomopsis*. E o primeiro relato da substância 11 na literatura. A 9 e 10 são micotoxinas conhecidas, e possuem propriedades mutagênicas e genotóxicas<sup>7</sup>.

### Conclusões

*Phomopsis* sp. demonstrou ser um excelente produtor de metabólitos secundários, uma vez que foram identificadas 15 substâncias e todas apresentam atividade biológica<sup>8</sup>, podendo este fungo exercer um papel ecológico no hospedeiro.

### Agradecimentos

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

<sup>1</sup>DREYFUSS, M. M.; CHAPELA, I. H. In: GULLO, V. P. Boston: Butterworth-Heinemann, 1994. Cap. 3, p. 49-80.

<sup>2</sup>STROBEL, G.; DAISY, B. *Microb. M. B. Rev.*, 2003, 67, p. 491-502.

<sup>3</sup>SILVA, G.H. 2005. 306p. Tese de doutorado em Química- IQ/UNESP.

<sup>4</sup>CHAPLA, V. M. et al. In: BCNP 2009.

<sup>5</sup>CHAPLA, V. M. et al. In: SBQ 2009.

<sup>6</sup>CHAPLA, V.M. et al. In: SILAE 2010.

<sup>7</sup>PFEIFFER, E. et al. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2007, 51, 307-316.

<sup>8</sup>CHAPLA, V. M. 2010. 274p. Dissertação de mestrado em Química - IQ/UNESP