

Avaliação da atividade antioxidante durante o crescimento do fungo endofítico *Penicillium citrinum* isolado de *Opuntia monacantha* (Cactaceae).

Thiago Wolff^{1*} (IC), Rodrigo V. Almeida² (PQ), Ligia M. M. Valente¹ (PQ)

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, ¹Dep. Química Orgânica, ²Dep. Bioquímica, C. T., Bl. A, 21941-909, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ. *twolff_rj@hotmail.com

Palavras Chave: *Penicillium citrinum*, *Opuntia monacantha*, fungo endofítico, Cactaceae

Introdução

O estudo recentemente iniciado envolvendo a busca de metabólitos novos e/ou ativos de fungos endofíticos de espécies de cactáceas brasileiras levou ao isolamento, entre outros, de uma cepa do fungo *Penicillium citrinum* presente na espécie *Opuntia monacantha*. O extrato AcOEt obtido por partição do meio de cultura desse fungo apresentou alta atividade citotóxica *in vitro* (inibição de 84, 86, and 95% em células NCI-H460, SF-268 e MCF-7, respectivamente) e atividade antioxidante com reagente DPPH (IC₅₀ 34,5 µg/mL). O aumento de escala de cultivo do fungo, realizado através do desenvolvimento de cultivos paralelos nas mesmas condições usadas inicialmente, seguido de partição com AcOEt e submissão dos extratos reunidos à CC em gel de sílica, levou à obtenção de uma fração contendo a micotoxina citrinina como componente majoritário além de outras substâncias aromáticas ainda não identificadas¹.

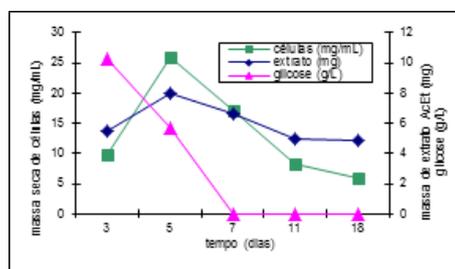
O presente trabalho teve como objetivo iniciar o estudo da cinética de crescimento desta cepa de *P. citrinum*, visando um maior entendimento da produção de seus metabólitos e das atividades apresentadas.

Resultados e Discussão

O fungo foi cultivado em paralelo utilizando-se erlenmeyers de 500 mL com 120 mL de meio Sabouraud Dextrose (conc. 2,0 x 10⁴ esporos/mL, agitação de 170 RPM, temperatura 30°C). Para o acompanhamento do crescimento, os cultivos foram interrompidos após 3, 5, 7, 11 e 18 dias. O meio líquido foi filtrado e a massa celular foi seca e pesada. O meio de cultura foi submetido à partição com 4 x 50 mL de AcOEt, o solvente evaporado à pressão reduzida e o extrato resultante pesado. O consumo de glicose no meio foi verificado por CLAE (coluna HPX-87P, fase móvel água MilliQ, fluxo 0,6 mL/min, temp. 80 °C e vol. injetado 20 µL). O perfil de metabólitos foi comparado por CCD (gel de sílica; CH₂Cl₂/MeOH 9:1; conc. das amostras 10 mg/mL; vol. 5 µL; revelação: UV a 254 e 365 nm, FeCl₃ e DPPH). A análise quantitativa preliminar do teor de citrinina foi realizada por densitometria através do 35^ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

aplicativo ImageJ. A determinação da atividade antioxidante foi realizada com o reagente DPPH (em triplicata).

Os resultados da variação da massa celular, peso do extrato e teor de glicose no meio são mostrados na Figura abaixo:



A variação da atividade antioxidante dos extratos obtidos encontra-se na Tabela abaixo:

Tempo de crescimento (dias)	Atividade antioxidante em DPPH - IC ₅₀ (µg/mL)
3	24,0
5	39,5
7	16,7
11	31,6
18	41,5

A análise do teor de citrinina mostrou uma tendência de aumento até o sétimo dia de cultivo caindo em seguida. O perfil cromatográfico em CCD dos metabólitos sofreu uma transformação significativa no 18^º dia em relação aos outros dias de monitoramento. A glicose consumida em 7 dias afetou consequentemente a massa do extrato e do material celular. A atividade antioxidante teve uma pequena variação durante o cultivo, atingindo o máximo em uma semana e depois caindo.

Conclusões

Foi possível avaliar diferenças no perfil dos metabólitos e na atividade antioxidante dos extratos produzidos em função do tempo de cultivo do fungo.

Agradecimentos

T.W. agradece à FAPERJ pela bolsa de IC.

¹ Wolff, T.; Ferreira, I.R.C.G.; Almeida, R.V. et al. 3rd Conference on Natural Products, MG, Brasil, 2011.