

Dicetopiperazinas e Ciclopeptídeos citotóxicos de *Aspergillus niger*.

Tiago Rocha Nogueira (IC)*, Antônia Valdiana Fernandes Oliveira (IC), Paula Karina Santos Uchoa (PG), Antônia Torres Ávila Pimenta (PQ), Maria da Conceição Ferreira de Oliveira (PQ), Leticia Veras Costa Lotufo (PQ), Elton Gois Ferreira (PG) e Mary Anne Sousa Lima (PQ).

tiagorochanogueira@alu.ufc.br

Palavras Chave: Dicetopiperazinas, ciclopeptídeos, *Aspergillus niger*

Introdução

O estudo de microorganismos marinhos tem recebido atenção especial através do uso de modernas técnicas de fracionamento químico, determinação estrutural e “screening”, na busca por novos protótipos bioativos. Fungos marinhos tem mostrado ser uma fonte prolífera de novos agentes antibacterianos, anti-inflamatórios, antivirais e citotóxicos¹. A bioprospecção de fungos obtidos a partir de sedimentos coletados na praia do Pecém (São Gonçalo-CE) revelou a cepa caracterizada como *Aspergillus niger* com uma alta atividade citotóxica (77%; IC50 0.95) em linhagem de células HCT-116. O estudo químico levou ao isolamento de dicetopiperazinas, pseurotinas e sesquiterpenos clorados.² A continuação deste estudo através do cultivo do fungo em um outro meio de cultura, levou ao isolamento de outras dicetopiperazinas, além de ciclopeptídeos com atividade citotóxica.

Resultados e Discussão

A partir da coleta de sedimentos marinhos na praia do Pecém (São Gonçalo – CE), foram isolados 47 cepas de fungos, que foram cultivados em meio de batata-dextrose (BD) acrescido de água marinha sintética e antibiótico. Os extratos obtidos foram submetidos a um screening para avaliação da atividade citotóxica em células tumorais: MDA-MB435 (mama), HCT-116 (cólon), SF-295 (glioblastoma), HL-60 (leucemia) e OVCAR-8 (ovário).

A cepa BRF074, identificada como *Aspergillus niger*, apresentou uma significativa atividade em células HCT-116 (77%; IC50 0,95) e foi selecionada para estudo. O cultivo foi feito em condições estáticas por 14 dias, com meio líquido contendo batata-dextrose-levedura (BDL) e água do mar sintética. Após filtração do micélio, o meio líquido foi submetido à partição líquido-líquido com AcOEt, para fornecer 1,0 g de extrato bruto. Uma alíquota do extrato (509,0 mg) foi submetido à cromatografia de fase reversa C-18 utilizando misturas binárias H₂O/MeOH seguindo um gradiente de polaridade para fornecer seis frações.

O estudo bioguiado para a avaliação da atividade citotóxica indicou uma forte inibição da proliferação

celular frente a linhagem de células HCT-116 (cólon) para a fração F-6. Esta fração foi purificada por CLAE, utilizando uma coluna em fase reversa, e eluição com uma mistura isocrática de H₂O/ACN (45:55) e fluxo de 4,72 mL/min, para levar ao isolamento dos ciclopeptídeos citotóxicos malformina A1 e malformina C. A fração F-3 (47,8 mg) foi submetida a CLAE utilizando como fase móvel a mistura de solventes H₂O/MeOH 60:40 e fluxo de 4,72 mL/min, para levar ao isolamento das dicetopiperazinas Ciclo-(S-Pro-R-Val) e Ciclo-(D-Pro-L-Tirosina).

A caracterização estrutural dos metabólitos isolados foi realizada através do uso de ressonância magnética nuclear, incluindo técnicas uni e bidimensionais, espectroscopia de massa de alta resolução, além de comparação com dados da literatura.

Conclusões

O estudo químico e farmacológico de *Aspergillus niger* já resultou no isolamento de dicetopiperazinas, pseurotinas e sesquiterpenos clorados obtidos do fungo cultivado em meio utilizando batata-dextrose (BD)². O acréscimo de extrato de levedura ao meio ocasionou o aparecimento de novas dicetopiperazinas, que estão sendo relatadas pela primeira vez para a espécie *Aspergillus niger*. Este estudo revelou ainda a presença dos ciclopeptídeos malforminas A1 e C, não observados no meio de cultura anterior.

Agradecimentos



¹ Bhadury, P. ; Mohammad, B.T. e Wright, P.C.; J. Ind Microbiol Biotechnol, **2006**, 33, 325.

² Uchoa, P. K. S.; Lima, M. A. S.; Saraiva, N. N.; Oliveira, M. C. F.; Rodrigues, B. S. F. e Pimenta, A. T. A. São Paulo Advanced School on Bioorganic Chemistry, **2013**.