

## Prospecção de metabólitos secundários no fungo endofítico *Diaporthe* sp. pela fermentação em Extrato de Malte.

Juliana Romano Lopes (IC), Angela Regina Araujo (PQ), Carolina Rabal Bissetto (PQ). Campus de Araraquara, Instituto de Química, Licenciatura em Química, jromanolopes@gmail.com. PIBIC-CNPq.

Palavras Chave: *Diaporthe* sp., fungos endofíticos, *Eugenia brasiliensis*.

### Introdução

Fungos que habitam assintomaticamente o interior de espécies vegetais, são denominados fungos endofíticos<sup>1</sup>. Estes são relatados na literatura<sup>2</sup> pela produção de substâncias inéditas e bioativas, podendo ter aplicações no campo da agricultura e medicina visando à produção de inseticidas, herbicidas naturais e novos fármacos como antibióticos e antitumorais.

Conhecendo a potencialidade dos fungos endofíticos como produtores de substâncias bioativas, que a produção metabólica é dependente do meio de cultivo e que em trabalhos anteriores<sup>3</sup>, *Diaporthe* sp. foi cultivado em Milho e produziu citocalasinas, alternariol e citosporona C, foi explorado, nesse trabalho, a produção metabólica de *Diaporthe* sp. em Extrato de Malte.

### Objetivos

O objetivo deste trabalho foi o cultivo em escala ampliada de *Diaporthe* sp., isolado de *E. brasiliensis*, no meio líquido de Malte, estudo do potencial químico e biológico do extrato bruto seguido de seu fracionamento e análise das frações obtidas.

### Material e Métodos

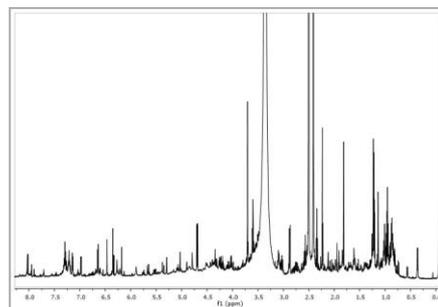
*Diaporthe* sp., foi isolado como fungo endofítico dos ramos saudáveis de *E. brasiliensis* de acordo com a metodologia descrita<sup>2</sup>. Após a obtenção da linhagem pura, esta foi inoculada em placas de Petri contendo BDA por sete dias a 25 °C. A seguir, pedaços do micélio foram inoculados em Extrato de Malte (previamente autoclavado), sendo cultivados por 28 dias a 25 °C. O caldo fermentado foi separado do micélio por filtração à vácuo e submetido à partição líquido/líquido com acetato de etila (AcOEt) fornecendo, após a evaporação do solvente o extrato bruto. Este foi fracionado por cromatografia em coluna, utilizando sílica gel de fase reversa (C18) e eluição em gradiente CH<sub>3</sub>OH:H<sub>2</sub>O, fornecendo cinco frações codificadas como Diap\_Fr1-Diap\_Fr5. A avaliação do perfil químico do extrato bruto assim como destas frações foi realizada por CCDC, RMN de <sup>1</sup>H e CLAE-DAD. A avaliação do perfil biológico do extrato bruto foi realizada frente aos fungos fitopatogênicos *C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum* e quanto a inibição da enzima acetilcolinesterase<sup>4</sup> (AChE).

### Resultados e Discussão

*Diaporthe* sp. demonstrou ser um excelente produtor de metabólitos secundários quando cultivado em Extrato de Malte, devido aos múltiplos sinais observados nos cromatogramas obtidos em CLAE/DAD e no espectro de RMN de <sup>1</sup>H para o extrato bruto (Figura 1) e para as cinco frações obtidas do fracionamento. Através das análises de RMN de <sup>1</sup>H das frações Diap\_Fr3 e Diap\_Fr4 foi verificado a presença de classes estruturais como citocalasinas e dicetopiperazinas.

As bioatividades foram avaliadas para o extrato bruto e observou-se excelentes resultados na inibição da enzima AChE e no ensaio antifúngico frente *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum*.

**Figura 1.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do extrato bruto de Malte.



### Conclusões

Os resultados obtidos reforçam o potencial do endófito *Diaporthe* sp. como produtor de metabólitos secundários com potencial biológico, evidenciando a necessidade da continuação dos estudos neste nicho de microrganismos visando o isolamento e elucidação estrutural de substâncias bioativas.

### Agradecimentos

À CNPq, FAPESP e CAPES pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup> Gunatilaka, A. A. L. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 509-526.

<sup>2</sup> Chapla, V. M.; Bissetto, C. R.; Araujo, A. R. *Rev. Virtual Quim.* **2013**, *5*, 421-437.

<sup>3</sup> Chapla, V. M. *Molecules*, **2014**, *19*, 6597-6608.

<sup>4</sup> Marston, A.; Kissling, J.; Hostettmann, K., *Phytochem. Anal.*, **2002** *13*, 51-54.