

Trabalho

X

Título em Português:	Isolamento e Identificação de Metabólitos Secundários Bioativos de Esponjas Marinhas
Título em Inglês:	Isolation and Identification of Bioactive Secondary Metabolites from Marine Sponges
Autor:	Mariane Moreira Mendanha
Instituição:	Universidade de São Paulo
Unidade:	Instituto de Química de São Carlos
Orientador:	Roberto Gomes de Souza Berlinck
Área de Pesquisa / SubÁrea:	Química Orgânica
Agência Financiadora:	CNPq - PIBIC

ATIVIDADE ANTIPLASMODIAL DO PSEUDOCERATIZANOL A ISOLADO DA ESPONJA *Aiolochoia crassa*

Mariane Moreira Mendanha

Kleyton Junior Gomes de Moraes

Cauê Arantes W. Zuccarino

Rafael Victorio Carvalho Guido

Prof.Dr. Roberto G.S. Berlinck

Instituto de Química de São Carlos (USP)

marianemendanha@usp.br

Objetivos

Os objetivos desse projeto compreendem a análise do metabolismo secundário da esponja marinha *Aiolochoia crassa* coletada no litoral brasileiro. Objetivos específicos incluem: a obtenção da frações enriquecidas em metabólitos secundários; realizar análises das frações obtidas por HPLC-UV-MS; isolamento dos metabólitos da esponja, e; avaliar os compostos puros em bioensaios de atividade antiplasmodial, contra o agente causador da malária, *Plasmodium falciparum*.

Métodos e Procedimentos

Uma massa de 150 g da esponja *A. crassa* foi extraída com fragmentação, extração em MeOH e filtração. A fração MeOH foi desengordurada com n-hexano. A fração MeOH desengordurada foi evaporada particionada entre AcOEt e H₂O. A fração AcOEt foi separada por cromatografia em fase reversa C₁₈. A fração F1 desta separação (0,6395 g) foi selecionada por HPLC-UV-MS para separação por cromatografia de exclusão por tamanho em coluna de Sephadex LH-20 (MeOH), gerando as frações CSF-1 a CSF-7. Estas frações foram novamente analisadas por HPLC-UV-MS. A fração CSF-3 foi selecionada

para separação de seus componentes por HPLC-UV. A fração CSF3-T2 foi enviada para bioensaio e análises por RMN, EM, IV, UV e dicroísmo circular.

Resultados

A fração CSF-3 apresentou 4 átomos de bromo em sua estrutura, tendo em vista o padrão isotópico dos sinais $[M+H]^+$ observados nas análises por HPLC-UV-MS.

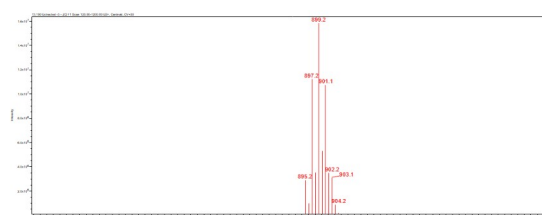


Figura 1: Espectro de massas no modo positivo do sinal cromatográfico majoritário (t_R = 13,1 min) da fração CSF-3.

A atividade antiplasmodial da amostra CSF-3-T2 foi de 50 µg/ml, com porcentagem de inibição do crescimento do parasita de 94 ± 1%. Esta fração apresentou pureza considerada adequada para elucidação estrutural por RMN. A análise desses dados

permitiu identificar o composto da fração CSF-3-T2 como sendo o pseudoceratinazol A (também conhecido por sunabedina), previamente isolado de uma esponja da ordem Verongida não identificada (Maru et al., 2010), e também da esponja *Pseudoceratina* sp. (Feng et al., 2010).

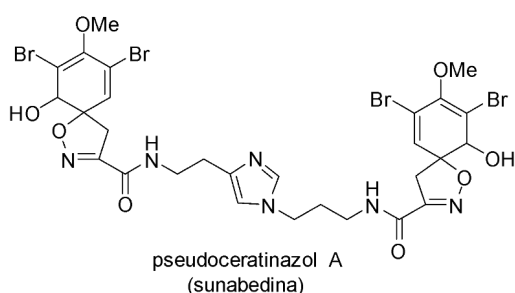


Figura 2. Estrutura Química do Pseudoceratinazol A

Conclusões

Os componentes da fração CSF-3 foram isolados, com identificação do composto CSF-3-T2 após sua purificação, como sendo o pseudoceratinazol A. Os outros compostos presentes ainda necessitam ser purificados e identificados.

Os autores declaram não haver conflitos de interesses.

Mariane Moreira Mendanha foi responsável por executar o trabalho e sua escrita. Cauê Arantes W. Zuccarino e Kleyton Junior Gomes de Moraes auxiliaram no planejamento e análise dos dados. Prof.Dr. Roberto G.S. Berlinck supervisionou a pesquisa realizada.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP, CAPES e CNPq pelo auxílio financeiro.

Referências

Maru, M.; Koyama, T.; Ohno, O.; Yamada, K.; Uemura, D. Sunabedine, a Novel Toxic Bromotyrosine-derivative Alkaloid from Okinawan Sponge, Order Verongida. *Heterocycles*, **2010**, 82, 371-375.

Feng, Y.; Davis, R. A.; Sykes, M. L.; Avery, V. M.; Camp, D.; Quinn, R. J. Pseudoceratinazole A: a novel bromotyrosine alkaloid from the Australian sponge *Pseudoceratina* sp. *Tetrahedron Letters*, **2010**, 51, 4847-4850.

ANTIPLASMODIAL ACTIVITY OF PSEUDOCERATIZANOL A ISOLATED FROM THE SPONGE *Aiolochoia crassa*

Kleyton Junior Gomes de Morais

Cauê Arantes W. Zuccarino

Rafael Victorio Carvalho Guido

Prof.Dr. Roberto G.S. Berlinck

Instituto de Química de São Carlos (USP)

marianemendanha@usp.br

Objectives

The aims of this project include analyzing the secondary metabolism of the marine sponge *Aiolochoia crassa*. Specific objectives include: obtaining fractions enriched in secondary metabolites; analyzing the obtained fractions by HPLC-UV-MS and in antiplasmodial assays; isolating the sponge metabolites; and evaluating the pure compounds in bioassays for antiplasmodial activity against the malaria-causing agent, *Plasmodium falciparum*.

Methods and Procedures

An amount of 150 g of the sponge *A. crassa* was extracted by fragmentation, extraction in MeOH, and filtration. The MeOH fraction was defatted with n-hexane. The defatted MeOH fraction was evaporated and partitioned between EtOAc and H₂O. The EtOAc fraction was separated by C18 reversed-phase chromatography. Fraction F1 from this separation (0.6395 g) was selected by HPLC-UV-MS for separation by size exclusion chromatography on a Sephadex LH-20 (MeOH) column, generating fractions CSF-1 to CSF-7. These fractions were again analyzed by HPLC-UV-MS. Fraction CSF-3 was selected for separation of its components by HPLC-UV. The

CSF3-T2 fraction was sent for bioassay and analysis by NMR, MS, IR, UV, and circular dichroism.

Results

The compound present in fraction CSF-3 presented 4 bromine atoms in its structure, considering the isotopic pattern of the [M+H]⁺ signals observed in the HPLC-UV-MS analyses.

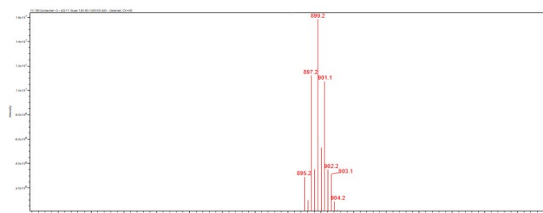


Figure 1: Positive mode mass spectrum of the majority chromatographic signal (t_R = 13.1 min) of the CSF-3 fraction.

The antiplasmodial activity of the CSF-3-T2 sample was 50 µg/ml, with a percentage of parasite growth inhibition of 94 ± 1%. This fraction presented a purity considered adequate for structural elucidation by NMR. Analysis of these data allowed us to identify the compound in the CSF-3-T2 fraction as being pseudoceratinazol A (also known as

sunabedina), previously isolated from an unidentified sponge of the order Verongida (Maru et al., 2010), and also from the sponge *Pseudoceratina* sp. (Feng et al., 2010).

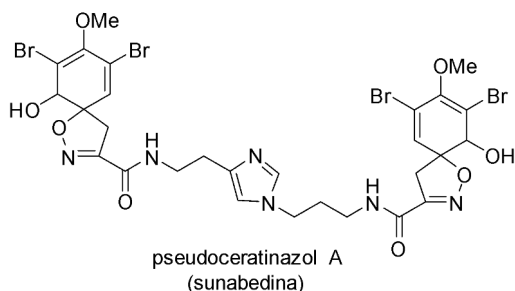


Figure 2. Chemical Structure of Pseudoceratinazole A

Conclusions

A compound of the CSF-3 fraction was isolated, with the identification of the compound CSF-3-T2 after its purification, as being pseudoceratinazole A. The other compounds present still need to be purified and identified.

The authors declare no conflicts of interest.

Mariane Moreira Mendanha was responsible for executing and writing the work. Cauê Arantes W. Zuccarino and Kleyton Junior Gomes de Moraes assisted with planning and data analysis. Prof. Dr. Roberto G.S. Berlinck supervised the research.

Acknowledgments

The authors thank FAPESP, CAPES and CNPq for financial support.

References

Maru, M.; Koyama, T.; Ohno, O.; Yamada, K.; Uemura, D. Sunabedine, a Novel Toxic Bromotyrosine-derivative Alkaloid from

Okinawan Sponge, Order Verongida. *Heterocycles*, **2010**, 82, 371-375.

Feng, Y.; Davis, R. A.; Sykes, M. L.; Avery, V. M.; Camp, D.; Quinn, R. J. Pseudoceratinazole A: a novel bromotyrosine alkaloid from the Australian sponge *Pseudoceratina* sp. *Tetrahedron Letters*, **2010**, 51, 4847-4850.