

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS BIOATIVOS DE ESPONJAS MARINHAS

Mariane M. Mendanha, Karina F. Baraco, Roberto G. S. Berlinck

Universidade de São Paulo

marianemendanha@usp.br

Objetivos

Os objetivos desse projeto compreendem a análise do metabolismo secundário de diferentes espécies de esponjas marinhas coletadas no litoral brasileiro. Os objetivos específicos incluem a obtenção das frações concentradas de metabólitos secundários de esponjas marinhas, realizar análises das frações obtidas por HPLC-UV-MS e também avaliar as mesmas frações em bioensaios de atividade antiplasmodial, contra o agente causador da malária, *Plasmodium falciparum*. Após os bioensaios e as análises por HPLC-UV-MS uma espécie de esponja marinha é selecionada para o isolamento de seu(s) metabólito(s) bioativo(s).

Métodos e Procedimentos

Oito espécies de esponjas marinhas foram extraídas com MeOH em banho de ultrassom. O solvente foi filtrado e o volume reduzido a 100 mL. A fração MeOH foi submetida a uma partição líquido/líquido com n-hexano, para remoção dos compostos lipídicos. A fração de MeOH seca e desengordurada foi ressuspendida em uma mistura de acetato de etila (AcOEt) e água (1:1 v/v) para nova partição líquido-líquido. As frações orgânicas (AcOEt) foram submetidas a fracionamento em colunas de extração em fase sólida (SPE) de

sílica gel derivatizada com grupos cianopropila. Alíquotas de 2 mg de cada uma das frações obtidas foram enviadas para bioensaio de atividade antiplasmodial, realizado pelo grupo do Professor Dr. Rafael Guido (IFSC/USP). Todas as frações orgânicas obtidas foram igualmente avaliadas por HPLC-UV-MS. Dentre todas amostras submetidas ao bioensaio e análises de HPLC-UV-MS, as oriundas da esponja BA07ES-87, posteriormente identificada como *Aiolochoia crassa*, apresentaram os resultados mais relevantes. Esta espécie foi selecionada para ser quimicamente investigada. O mesmo procedimento de extração descrito anteriormente foi feito com cerca de 150 g (massa seca) dessa esponja até obter a fração AcOEt, que foi submetida a uma separação por cromatografia em coluna de sílica-gel derivatizada com grupos octadecilsilil (C_{18}) utilizando-se um gradiente de MeOH em H_2O . Todas as frações obtidas foram analisadas por HPLC-UV-MS. Os espectros de massas dos principais metabólitos detectados foram confrontados com dados do Dictionary of Natural Products (DPN), de maneira a se verificar se compostos são conhecidos em função de suas respectivas massas moleculares e quantidade de átomos de bromo em suas respectivas estruturas. Duas frações obtidas

foram selecionadas para um estudo químico mais detalhado.

Resultados

A tabela 1 apresenta os resultados do bioensaio para as espécies analisadas.

Amostra	F1	F2	F3	F4	F5	F6
SG	93 ± 3	94 ± 2	-----	-----	25 ± 6	-----
AA	95 ± 2	96 ± 3	-----	-----	-----	-----
SS08_ES01	96 ± 4	96 ± 3	94 ± 4	-----	78 ± 4	16 ± 5
BA07_ES87	95 ± 4	94 ± 4	97 ± 3	98 ± 2	94 ± 5	73 ± 7
BA07_ES60	95 ± 5	94 ± 4	95 ± 5	-----	36 ± 1	6 ± 2
BA07_ES100	94 ± 5	90 ± 6	93 ± 4	-----	83 ± 9	14 ± 2

Tabela 1- Porcentagem de inibição do crescimento de *Plasmodium falciparum* concentração de 50 µg/mL de cada amostra testada (média ± desvio padrão)

A espécie *Aiolochoia crassa* BA07ES-87 foi selecionada por apresentar maior quantidade de frações ativas contra *P. falciparum*, por apresentar maior massa de material biológico obtido e por apresentar diversos compostos nas análises por HPLC-UV-MS. As análises por HPLC-UV-MS dessas frações indicaram a presença de uma grande variedade de compostos bromados. As duas frações selecionadas foram posteriormente separadas por cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 foram analisadas por HPLC-UV-MS. As frações obtidas foram comparadas e reunidas por similaridade cromatográfica e de seus constituintes. A fração 1:9, por exemplo, apresentou a kuchinoenamina com as massas protonadas em m/z 650/652/654/656 e a aplisinamisina em m/z 504/506/508 (Figura 1).

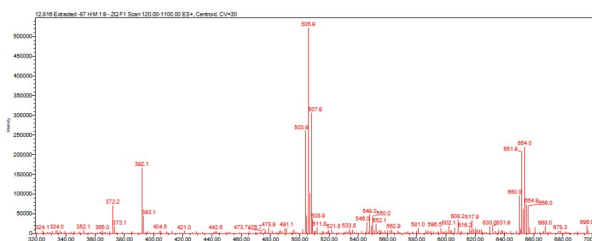


Figura 1: Espectro de massas que apresenta os sinais de

íons protonados $[M+H]^+$ da kuchinoenamina (em m/z 650/652/654/656) e da aplisinamisina (em m/z 504/506/508).

Estas frações se encontram nas etapas finais de purificação, para posterior identificação dos metabólitos por técnicas espectroscópicas e espectrométricas.

Conclusões

As frações obtidas da separação dos metabólitos secundários da esponja *Aiolochoia crassa* por cromatografia em Sephadex 12 já foram analisadas por HPLC-UV-MS. Os dados estão sendo analisados para desreplicação metabólica. Todas amostras obtidas serão enviadas para bioensaio com intuito de avaliar a atividade antimalárica. Espera-se com este projeto se isolar e determinar a estrutura de vários metabólitos com atividade antiplasmodial contra *Plasmodium falciparum*.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP pelo apoio financeiro (2019/17721-9), ao CNPq e CAPES (8887.948552/2024-00) pelo apoio financeiro. Também agradecem à Dra. Karin Fabiana Bandeira por todo apoio recebido.