



## **FUNGICIDAS Y BACTERICIDAS DE MICOENDÓFITOS PRESENTES EN LAS GIMNOSPERMAS NATIVAS DE CHILE**

**EMILIO RICARDO HORMAZABAL URIBE  
DOCTOR EN CIENCIAS, MENCIÓN INVESTIGACIÓN Y  
DESARROLLO DE PRODUCTOS NATURALES**

### **RESUMEN**

A partir de 8 especies de gimnospermas nativas recolectadas en el sur de Chile (Regiones VIII-XI) se aislaron 38 hongos endófitos, identificándose taxonómicamente 23 de ellos. Los hongos se cultivaron en medio líquido papa-glucosa (PG) y los extraíbles en acetato de etilo se evaluaron como antimicrobianos mediante el ensayo de difusión en agar (100 µg/disco) y por microdilución a partir de una concentración de 1000 µg/ml.

Los extractos más activos sobre los hongos fitopatógenos *Alternaria alternata* y *Botrytis cinerea* fueron los aislados E-3, *Penicillium janczewskii* y *Microsphaeropsis olivacea*. Estos microorganismos se cultivaron a escala preparativa en medio líquido PG y extracto de levaduraextracto de malta-glucosa (YMG). *P. janczewskii* y *M. olivacea* también se cultivaron sobre medio sólido para comparar la producción de metabolitos. De estos tres microorganismos, se aislaron e identificaron por métodos espectroscópicos 13 compuestos. Del cultivo líquido PG de E-3 se obtuvo tirosol (1), p-hidroxibenzaldehído (2) y meleina (3) mientras de *P. janczewskii* en medio PG se aislaron peniprequinolona (4) y gliovictina (5) y del cultivo en YMG pseurotina A (6). Del cultivo de *M. olivacea* en medio sólido y medio líquido (PG e YMG) se obtuvieron butirolactona I (7), ulocladol (8), grafislactona A (9), botralina (10), 2,5-diacetilfenol (11), 7-hidroxi-2,4-dimetil-3(2H)- benzofuranona (12) y enalina (13). Por acetilación de los compuestos 5, 8, 9 y 10 se prepararon sus acetatos. Los compuestos 11 y 12 son

descritos como productos naturales por primera vez. También se describen por primera vez los acetatos de los compuestos 8 y 10. En este estudio se informa por primera vez la producción de 4, 5 y 6 por *P. janczewskii* así como de los metabolitos 7-13 por *M. olivacea*. Los metabolitos con mejor actividad sobre *A. alternata* fueron 8 a, 8 b y 10, con concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) de 62,5 µg/ml y los compuestos 3, 6 y 13 con MIC de 125 µg/ml. Los productos 8 a y 8 b fueron los metabolitos con mayor actividad sobre *B. cinerea*, con MIC de 125 y 62,5 µg/ml, respectivamente. Los metabolitos 9 y 10 presentaron una interesante actividad sobre la enzima acetilcolinesterasa, con una concentración inhibitoria del 50 % (IC50) de 8,1 y 6,1 µg/ml respectivamente. La citotoxicidad de ambos compuestos sobre fibroblastos fue baja, con una IC50 > 1000 y 330 µM, respectivamente.

Este trabajo presenta por primera vez la riqueza estructural y potencial de los metabolitos producidos en cultivo por hongos endófitos de gimnospermas nativas

## ABSTRACT

Some 38 endophytic fungi were isolated from 8 native gymnosperm species collected in southern Chile (Regiones VIII-XI), 23 of them being identified at least at the generic level. The fungi were cultured in potato-glucose liquid medium (PG) and the ethyl acetate solubles were assessed for antimicrobial activity by the agar diffusion test (100 µg/disk) and microdilution starting at a concentration of 1.000 µg/ml. The most active extracts against the phytopathogenic fungi *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea* proved to be the isolates E-3, *Penicillium janczewskii* and *Microsphaeropsis olivacea*. The selected microorganisms were grown in PG as well as yeast extract-malt extract-glucose (YMG) liquid medium. *P. janczewskii* and *M. olivacea* were also cultured on solid medium (rice) to compare the qualitative and quantitative production of secondary metabolites.

Some 13 compounds were isolated from the selected microorganisms and identified by spectroscopic methods. From the liquid PG culture of E-3 the compounds 1-3 were obtained: tyrosol (1), p-hydroxybenzaldehyde (2) and mellein (3) while from *P. janczewskii* grown on PG medium peniprequinolone (4) and gliovictin (5) and from the YMG culture pseurotin A (6) were isolated. From both liquid (PG and YMG) as well as solid medium grown *M. olivacea*, butyrolactone I (7), ulocladol (8), graphislactone A (9), botrallin (10), 2,5-diacetylphenol (11), 7-hydroxy-2,4-dimethyl-3(2H)-benzofuranone (12) and enalin (13) were obtained. The acetates of compounds 5, 8, 9 and 10 were prepared by acetylation of the corresponding alcohols.

Compounds 11 and 12 are described for the first time as natural products. This is the first report of the acetates of compounds 8 and 10. In the present study, the production of the metabolites 4, 5 and 6 by *P. janczewskii* as well as the compounds 7-13 by *M. olivacea* is reported for the first time.

The metabolites displaying the best activity towards *A. alternata* were 8 a, 8 b and 10, with minimal inhibitory concentrations (MICs) of 62,5 µg/ml and the products 3, 6 and 13 with MICs of 125 µg/ml. The compounds 8 b and 8 a were the most active against *B. cinerea*, with MICs of 62,5 and 125 µg/ml, respectively. The products 9

and 10 showed a good inhibitory activity towards the enzyme acetylcholinesterase with inhibitory concentration 50 % (IC<sub>50</sub>) of 8,1 and 6,1 µg/ml, respectively. The cytotoxicity of both compounds towards fibroblasts was low, with IC<sub>50</sub> > 1000 and 330 µM, respectively. This work present for the first time the structural diversity and potential of secondary metabolites produced by endophytes from Chilean native gymnosperms.

