

Detecção e identificação de cerebrosídeos e dos isômeros *exo* e *endo* peróxido de ergosterol produzidos pelo fungo *Eutypa* sp.

Lívia Soman de Medeiros¹ (IC), Gezimar D. de Souza¹ (PG), Antonia Q. L. de Souza¹ (PG), Afonso D. L. de Souza¹ (PG), Edson Rodrigues Filho¹ (PQ)

liviasmed@uol.com.br; edinho@pesquisador.cnpq.br

1. Lab. de Bioquímica Micromolecular de Microorganismos – Departamento de Química – UFSCar – São Carlos

Palavras Chave: *Eutypa* sp., cerebrosídeo, peróxido de ergosterol

Introdução

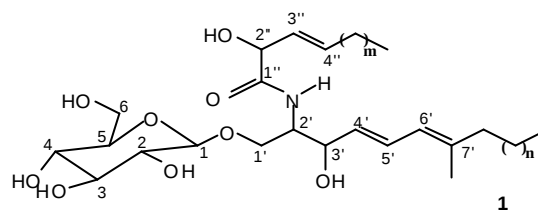
A partir da planta *Murraya paniculata* (Rutaceae), isolou-se um fungo endofítico cuja classificação, baseada em caracteres morfológicos e análise genômica, pertence ao gênero *Eutypa*. Os compostos voláteis produzidos por este fungo apresentam forte odor característico e uma forte atividade antimicrobiana.¹ Estudos químicos anteriores mostraram que *Eutypa* sp. é produtora de glicosídeos de sesquiterpenos da classe dos guaiananos, quando o fungo é cultivado em meio semi-sólido (batata-dextrose).²

Durante nossas investigações visando a maximização da produção desses glicosídeos em outros meios (arroz, milho, etc), nós identificamos cerebrosídeos (glicosídeos de ergosterol) (**1**) e dois isômeros (**2** e **3**) do peróxido de ergosterol (esteróides), produzidos pelo fungo quando ele é cultivado em arroz.

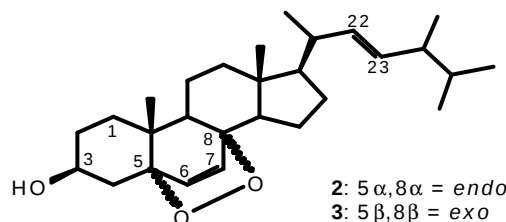
Resultados e Discussão

Um inóculo de *Eutypa* sp. foi preparado em meio BDA a partir do qual o fungo foi cultivado em arroz (Uncle Ben's) esterilizado por duas vezes em autoclave. Após trinta dias de crescimento, com agitação manual nos primeiros dias, o meio contendo o fungo foi triturado na presença de etanol, e filtrado. Após a evaporação do solvente, o extrato obtido foi submetido a metodologias cromatográficas clássicas de bancada, e o fracionamento monitorado por CCD. As frações mais puras foram analisadas por RMN ¹H e EM.

O espectro de RMN¹H de **1** em CD₃OD mostram uma série de multipletos na região de hidrogênios carbinólicos (δ 3.30 a 5.80) relativos aos núcleos H-1 a H-6, H-2', 3' e 2''. A presença da unidade de glicose foi confirmada pelos deslocamentos de ¹³C no espectro de RMN a δ 105.1 (C-1), 75.4 (C-2), 78,8 (C-3), 72.0 (C-4), 78.1 (C-5) e 63.1 (C-6). A comparação dos demais dados de RMN¹³C com os divulgados na literatura permitiram estabelecer as posições das ligações duplas C-C em C-4', C-6' e C-3''. Os dados de EM, obtidos por ESI, indicam que *m* varia de 9 a 15 e *n* de 7 a 11.



O perfil de esteróide no espectro de RMN¹H de **2** e **3** é rapidamente reconhecido pela presença dos dubletos dos grupos metilas em δ 1.84 (H-21), 0.84 (H-26), 0.81 (H-27) e 1.00 (H-28), além dos singletos em δ 0.82 (H-18) e 0.88 (H-19). Esses sinais são frequentemente encontrados em esteróides com esqueleto ergostano. No entanto, os sinais dos hidrogênios olefínicos em C-6 e C-7 para **2** e **3** aparecem como dois pares de dubletos em δ 6.29/6.18 e 6.63/6.40 (8.5 Hz). Esses dados são corroborados pelos espectros de RMN¹³C, indicando a presença do ergosterol nas formas de *exo* e *endo* peróxido.



Conclusões

Esse trabalho mostra que não apenas os voláteis ou glicosídeos de sesquiterpenos de *Eutypa* são os responsáveis pela atividade antibiótica. Conforme a literatura, os cerebrosídeos também atuam no crescimento de vários outros gêneros de fungos. Embora **2** e **3** não sejam compostos novos, é pouco comum a co-produção desses isômeros, uma vez que eles são aparentemente formados via reação tipo Diels-Alder enzimática entre ergosterol e oxigênio molecular.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq, CAPES, SESu/MEC-PET.

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

¹Souza, A. Q. L. UFSCar, 2006 – Tese de doutorado, DGE-UFSCar, São Carlos –SP.

² Souza, A. D. L. UFSCar, 2005 – Tese de doutorado, DQ-UFSCar, São Carlos –SP.