Detecção seletiva de amidas Bis-fenilpropanoídicas por MS/MS em culturas do fungo *Penicillium* sp.

Taícia P. Fill¹ (IC)^{*}, Edson Rodrigues Filho¹ (PQ)

taicia@gmail.com, edinho@pesquisador.cnpq.br

1. Laboratório de Bioquímica Micromolecular de Microorganismos (LaBioMMI) – UFSCa r- São Carlos-SP Palavras Chave: Amidas Bis-fenilpropanoídicas , <u>Penicillium</u>, antiparasitária.

Introdução

As amidas Brasiliamida A (1), e Brasiliamida E (2), produzidas por uma espécie de *Penicillium* isolada das raízes de *Melia azedarach* (Meliaceae)¹, são raros exemplos de substâncias bisfelnilpropanoídicas produzidas por microorganismos. Além da atividade antibiótica, essas substâncias apresentaram atividade inseticida contra larvas do bicho-da-seda, *Bombix Mori*.²

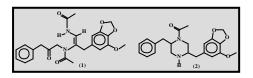


Figura 1: Estruturas moleculares das substâncias Brasiliamida A e E respectivamente.

Resultados e Discussão

Com o objetivo de detectar seletivamente a produção das amidas Bis-fenilpropanoídicas em diferentes meios de cultivo, o fungo *Penicillium* sp. foi cultivado nos meios de arroz, milho, trigo, soja e caldo de arroz. A extração foi realizada depois de 16 dias de cultivo adicionando-se 70mL de metanol e 30mL de acetato de etila nos meios de cultivo sólidos e 20g de NaCl nos meios líquidos.

Posteriormente, estes extratos, assim como a substância padrão, foram submetidos à análise por ESI/MS em um espectrômetro triplo quadrupolo (QuattroLC – MICROMASS). O fluxo utilizado nas análises foi de 250µL/min (ACN,H₂O 1:1) e o solvente utilizado foi metanol.

As amidas **1** e **2** apresentaram grande número de fragmentos quando analisadas no modo negativo de ionização (figura 2), sendo essa uma característica importante quando se deseja verificar a presença desta substância no extrato por comparação com o espectro de massas de íon produtos padrão.

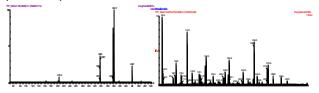


Figura 2: Espectro de Massas de íons produtos do íon *m/z* 439 (modo positivo) e m/z 437 (modo negativo) respectivamente, a energia de colisão foi de 25eV.

Pode-se verificar que o fungo foi apto na produção da substância desejada nos diferentes meios de cultivo propostos, através da comparação dos espectros de massas de íons produtos do padrão e dos extratos analisados.(Figura 3)

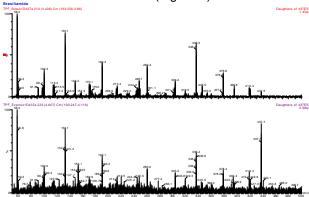


Figura 3: Comparação dos espectros de íons produtos para a o padrão e extrato de arroz (modo negativo).

Um possível mecanismo de fragmentação proposto para ionização no modo negativo, considera a desprotonação no carbono a carbonílico, e após isomerização da dupla ligação e abstração do próton pelo átomo de nitrogênio, ocorre a perda do grupo (C_2NOH_5) , levando a formação de um anel de quatro membros, referente à m/z 378, este fragmento depois de um possível rearranjo 1,3 leva a formação do íon m/z 336. A formação do pico base (m/z 58) foi proposta através de uma ciclização em um anel de seis membros.

Conclusões

Os experimentos de íons produtos no modo negativo se mostraram seletivos para a detecção da substância Brasiliamida A nos diferentes meios de cultura testados.

A espectrometria de massas é uma técnica que permite a detecção seletiva destas substâncias de maneira rápida e sensível.

Agradecimentos

Aos órgãos financiadores FAPESP, CAPES e CNPg

30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

Santos, M. R.G.; Tese de doutorado, programa de Pós-Graduação em Química-UFSCar, 2003,443pp
Fujita, T.; Makishima, D.;Hayashi, H. Biosci. Biotechnol.

Biochem.. 2002, 66(8), 3415