

Influência das condições de cultivo de fungos filamentosos nos estudos de biotransformação do lupeol

Marcela E Severiano (IC)¹, Marília R Simão (IC)¹, Sérgio R. Ambrósio (PQ)¹, Antonio E. M. Crotti (PQ)¹, Norberto P. Lopes (PQ)², Izabel C. C. Turatti (TC)², Uir S. de Figueiredo (PQ)³, Nieve A. J. C. Furtado (PQ)^{1,2*}.

e-mail: niege@fcrp.usp.br

¹Núcleo de Pesquisa em Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade de Franca, Franca, SP, Brasil.

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

³Instituto de Ciências Exatas e da Terra da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, Brasil.

Palavras Chave: lupeol, fungos filamentosos, biotransformação.

Introdução

Os fungos filamentosos possuem enzimas capazes de catalisar grande variedade de reações. As condições de cultivo exercem influência direta sobre as reações de biotransformação. Muitas enzimas requerem metais coordenados, os quais podem ser fornecidos através do enriquecimento do meio de cultura. Por outro lado, a presença ou ausência desses metais pode conduzir a formação de diferentes produtos. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial dos fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium roqueforti* para biotransformar o lupeol (figura 1) em diferentes condições de cultivo. Esta substância foi selecionada devido a suas várias atividades biológicas, dentre estas antitumoral¹ e cardioprotetora².

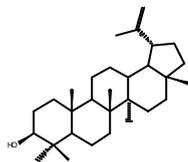


Figura 1. Estrutura do lupeol.

Resultados e Discussão

As culturas dos fungos *A. niger* e *P. roqueforti* foram desenvolvidas nos meios fermentativos de Czapek³ e Koch's K1³. Alíquotas das culturas foram retiradas a cada 24 h e submetidas a partições líquido-líquido, para obtenção dos extratos em acetato de etila. Os extratos obtidos foram então analisados por CG-EM.

Os resultados das análises das amostras evidenciaram que o potencial dos fungos estudados foi demonstrado apenas quando as culturas foram desenvolvidas no meio Koch's K1. Produtos de biotransformação foram detectados no período de 144 a 240 h na cultura do fungo *A. niger* e exatamente após 192 h de cultivo na cultura do fungo *P. roqueforti*.

Os espectros de massas dos produtos de biotransformação estão apresentados nas figuras 2 e 3. Pode-se observar a presença de íons fragmentos semelhantes aos observados no espectro de massas do lupeol e compatíveis com o padrão de

fragmentação de triterpenos pentacíclicos. A princípio, o íon de m/z 384, que aparece nos espectros de massas destes dois produtos de biotransformação, poderia ser considerado como sendo o íon molecular. Entretanto, a intensidade deste íon é maior no espectro do constituinte **A** de *A. niger* (figura 2) do que no do constituinte **B**, obtido de *P. roqueforti* (Figura 3). Este fato, somado às diferenças nos tempos de retenção dos dois constituintes, possibilita sugerir que no caso de **A** ($t_R = 47,63$ min), o referido íon trata-se de um íon fragmento, formado a partir do íon molecular, cuja massa molecular ainda não foi determinada. No caso do constituinte **B** ($t_R = 48,89$ min), o íon de m/z 384 pode ser indicativo de um produto de biotransformação resultante de oxidações sucessivas na porção isopropenil da molécula do lupeol, seguidas de descarboxilações, justificando assim a diferença de 42 unidades de massas em relação ao material de partida.

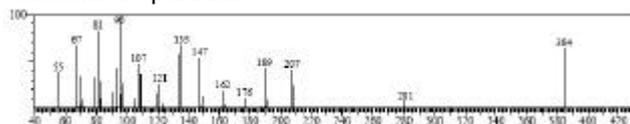


Figura 2. Espectro de massas do constituinte com $t_R = 47,63$ min, obtido da cultura do fungo *A. niger*.

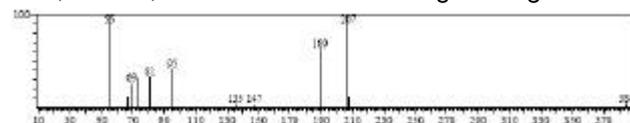


Figura 3. Espectro de massas do constituinte com $t_R = 48,89$ min, obtido da cultura do fungo *P. roqueforti*.

Conclusões

Os resultados deste trabalho mostraram que a habilidade dos fungos filamentosos de biotransformar o triterpeno lupeol é influenciada pelo meio de cultura e pelo tempo de incubação.

Agradecimentos

FAPESP- Processo nº 05/59329-5

¹ Saleem, M.; Alam, A.; Arifin, S.; Shah, M. S.; Ahmed, B.; Sultana, S. *Pharmacol. Res.* **2001**, *43*, 127.

² Sudharsan, P. T.; Mythili, Y.; Selvakumar, E.; Varalakshmi, P. *Hum. Exp. Toxicol.* **2005**, *24*, 313.

³ Atlas, R. M. *Handbook of microbiological media*. Boca Raton: CRC press, 1995.