

Destruixinas vermífugas produzidas por otimização das condições de crescimento do fungo *Beauveria felina* e análise por LC-MS-ELSD.

Raquel Peres de Moraes Urano*¹ (PG), Mirna H. R. Seleglim² (PQ), Aristeu G Tininis³ (PQ), Ana Carolina S. Chagas⁴ (PQ), Roberto Gomes de S. Berlinck¹ (PQ). Email: raquelperes@iqsc.usp.br

¹Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, CP 780, CEP 13560-970, São Carlos, SP; ²Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP; ³Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Verde, Rio Verde, GO; ⁴Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

Palavras Chave: destruxinas; *Beauveria felina*, quimiometria, atividade vermífuga

Introdução

A infecção por parasitas gastrintestinais representa a mais importante fonte de prejuízos para criadores de ovinos em várias regiões do mundo. O *Haemonchus contortus*¹ é considerado o principal parasita gastrintestinal dos ovinos, devido à sua alta patogenicidade e resistência a medicamentos. Desse modo tornou-se grande o interesse em buscar por novos vermífugos que sejam eficientes contra esse parasita.

O fungo *Beauveria felina* produz destruxinas, depsipeptídeos cíclicos que apresentam diversas atividades biológicas². As destruxinas são utilizadas em controle biológico de diferentes culturas vegetais. Porém não há relatos na literatura de atividade vermífuga para estes compostos.

O presente trabalho teve como objetivo analisar por LC-ELSD-MS a composição de destruxinas em frações obtidas do extrato do fungo *Beauveria felina* que apresentaram atividade vermífuga contra *Haemonchus contortus*.

Resultados e Discussão

O fungo *B. felina* foi crescido em meio MF em diferentes condições de crescimento, variando-se a composição em nutrientes, a salinidade do meio, pH, temperatura e número de dias de incubação. A variação destes parâmetros foi planejada de acordo com métodos quimiométricos.³

Após o tempo de incubação, os meios de cultura foram filtrados separando-se o micélio do meio líquido. O meio líquido de cada experimento foi submetido a uma extração em fase sólida (SPE) em coluna C₁₈ (eluente: gradiente de MeOH em H₂O) a partir da qual foram obtidas 4 frações: H₂O/MeOH 75:25 (fração 1), 50:50 (Fração 2), 25:75 (Fração 3) e 100% MeOH (Fração 4).

As frações obtidas de cada experimento de crescimento foram analisadas por HPLC (C₁₈, gradiente de MeOH em H₂O): as integrais das áreas dos picos observados em 230 nm, com t_R entre 10 e 26 min., de acordo com padrões de destruxinas.

Pôde-se observar a presença de destruxinas nas frações 3 e 4.

Foram reunidas todas as frações 3 e todas as frações 4 dos experimentos de variação dos parâmetros de incubação, pois apresentaram composição praticamente idêntica. As duas frações foram separadamente avaliadas no bioensaio de atividade vermífuga. A fração 3 teve 98% de eficácia contra o parasita *H. contortus*, enquanto a fração 4 não foi ativa. Estas frações foram analisadas por LC-ELSD-MS (ESI⁺) objetivando conhecer a composição em destruxinas de cada fração, com dados de massa da literatura.

A fração 3 apresentou as seguintes destruxinas: destruxina Ed1 (*m/z* 625), cloridrina da destruxina A4 (*m/z* 644), destruxina A1 ou A4 (isoméricas, *m/z* 591), homodestruixina B (*m/z* 607), e desconhecidas na fração 3 que apresentaram sinais em *m/z* 666,7 e *m/z* 610,6. Presentes nas frações 3 e 4: [Ph³,N-Me-Val⁵] destruxina B (*m/z* 655). Presentes somente na fração 4: destruxina C2 ou desmetildestruixina C ou destruxina F (isoméricas, *m/z* 595), e desconhecidas na fração 4 que apresentaram sinais em *m/z* 632,7; *m/z* 646,8; *m/z* 648,8; *m/z* 568,8. Como se vê, o fungo *B. felina* é um produtor extremamente prolífico de ciclohexadepsipeptídios pertencentes à família das destruxinas.

Conclusões

Neste trabalho verificamos que destruxinas apresentam atividade vermífuga, não relatada anteriormente na literatura. A análise por LC-MS-ELSD foi eficaz para detecção de destruxinas conhecidas e desconhecidas produzidas pelo fungo *Beauveria felina*, e permitiu distinguir a composição da fração ativa da inativa. Os compostos da fração ativa serão isolados e analisados para sua caracterização estrutural e avaliação no teste de atividade vermífuga.

Agradecimentos

À FAPESP ao CEBIMar-USP.

¹Chagas, A.C.S.; Oliveira, M.C.S.; Fernandes, L.B.; Machado, R.; Esteves, S.N.; Sales, R.L.; Barioni, W.J. *Documentos 65 Embrapa Pecuária Sudeste*. **2007**,9-14.

²Lira, S.P.; Vita-Marques, A.M.; Selegim, M.H.R.; Bugni, T.S.; Labarbera, D.; Sette, L.D.; Sponchiado, S.R.P.; Ireland, C.M.; Berlinck, R.G.S. *J. Antibiotics*. **2006**, 59, 553-563.

³Teófilo, R.E.; Ferreira, M.M.C. *Quím. Nova*. **2006**, 29, 338 –350.