

Biotransformação do ácido oleanólico por *Mucor rouxii*.

Clarissa S. Capel (IC)¹, Ana C. D de Souza (IC)¹, Aline M. Polizeli (IC)¹, Sérgio R. Ambrósio (PQ)², Antonio E. M. Crotti (PQ)², José C. Tomas (TC)¹, Norberto P. Lopes (PQ)¹, Nieve A. J. C. Furtado (PQ)¹.

e-mail: niege@fcrp.usp.br

¹ Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

² Núcleo de Pesquisa em Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade de Franca, Franca, SP, Brasil.

Palavras Chave: ácido oleanólico, biotransformação, *Mucor rouxii*.

Introdução

O ácido oleanólico (1), frequentemente encontrado em vegetais superiores, tem sido alvo de investigações principalmente por apresentar atividades anti-inflamatória¹, hepatoprotetora², antitumoral³ e antiviral⁴. Durante a década de 90 foram publicados mais de 700 artigos sobre isolamento, purificação, obtenção de derivados por métodos químicos, atividades biológicas, estudos de toxicidade e sobre o uso clínico deste triterpeno em várias doenças⁵. A obtenção de derivados deste triterpeno descrita na literatura por métodos químicos convencionais inclui modificações nos anéis A e C e substituições dos grupos carboxílico (C-17) e hidroxílico (C-3), entre outras. Entretanto, há apenas duas publicações mais recentes em periódicos internacionais reportando a obtenção de derivados deste triterpeno por biotransformação. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial do fungo *Mucor rouxii* para biotransformar o ácido oleanólico em diferentes condições de cultivo.

Resultados e Discussão

Com o objetivo de selecionar a condição de cultivo adequada para obtenção de produtos de biotransformação, culturas do fungo *Mucor rouxii* foram desenvolvidas nos meios fermentativos de Czapek⁶ e Koch's K1⁶. Aliquotas 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 CLAE-DAD, em gradiente exploratório, e os picos detectados, em comprimentos de onda compatíveis com a detecção de derivados triterpênicos, foram coletados e analisados por ESI-EM no modo negativo.

O potencial do fungo estudado para obtenção do produto de biotransformação isolado foi demonstrado quando as culturas foram desenvolvidas no meio Koch's K1 por 216 horas.

Culturas foram desenvolvidas na condição selecionada para obtenção de maior quantidade do extrato em acetato de etila, o qual foi submetido a um processo de clean-up em cartucho de SPE e, posteriormente, a CLAE-DAD (semipreparativa).

O produto isolado foi identificado como ácido 21 β -hidroxi-3-oxo-olean-12-en-28-óico (2). No espectro de RMN ¹H foram observados os sinais que podem

ser atribuídos a sete grupos metílicos na faixa de δ_H 0,82 a 1,16, a um hidrogênio carbinólico em δ_H 3,57 (dd, J = 4,6 e 11,9 Hz), a dois hidrogênios pertencentes a um grupo metilênico em δ_H 2,39 e δ_H 2,56, além do sinal atribuído ao hidrogênio olefínico ligado ao C-12 em δ_H 5,36. No espectro de RMN ¹³C foram observados os sinais atribuídos a carbonila carboxílica em δ_C 180,8, a carbonila da função cetônica em C-3 em δ_C 217,6 e ao carbono carbinólico em δ_C 73,7. A atribuição do grupo hidroxílico na posição 21 β pode ser confirmada pelas correlações de HMBC observadas para os sinais em δ_H 0,94 e δ_H 1,01, atribuídos as metilas CH₃-30 e CH₃-29, com o sinal do C-21 em δ_C 73,7. O sinal em δ_H 1,10, atribuído a metila CH₃-23, apresentou correlação no HMBC com o carbono em δ_C 217,6, confirmando a posição da carbonila da função cetônica no C-3. A análise do espectro de massas confirmou a fórmula molecular da estrutura proposta.

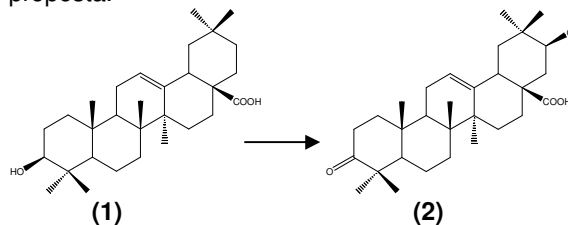


Figura 1. Transformação do ácido oleanólico (1) por *Mucor rouxii*.

Conclusões

O resultado obtido revela que o fungo *Mucor rouxii* constitui um biocatalisador para a transformação do ácido oleanólico no protocolo estabelecido.

Agradecimentos

FAPESP- Processo nº 05/59329-5; CAPES

¹ Dharmappa, K. K.; Kumar, R. V.; Nataraju, A.; Mohamed, R.; Shivaprasad, H. V. e Vishwanath, B. S. *Planta Med.* **2009**, 75, 211.

² Sultana, N. e Ata, A. *J Enzyme Inhib Med Chem.* **2008**, 23, 739.

³ Novotny, L.; Vachalkova, A. e Biggs, D. *Neoplasma* **2001**, 48, 241.

⁴ Huang, L. e Chen, C. H. *Curr Drug Targets Infect Disord.* **2002**, 2, 33.

⁵ Liu, J. *J Ethnopharmacol.* **2005**, 100, 92.

⁶ Atlas, R. M. *Handbook of microbiological media*. Boca Raton: CRC press, 1995.