

Biossíntese de um macrociclo policetídeo sulfurado produzido em meio de cultura por um fungo do ambiente marinho

Laura P. Ióca (PG)¹, Marcos V. Castro (PG)¹, Roberto G. S. Berlinck (PQ)^{1*}

¹Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, CP 780, CEP 13560-970, São Carlos, SP-Brasil.

Palavras Chave: biossíntese, produtos naturais, cisteína, fungo marinho, policetídeo

Introdução

A 10,11-dehidrocurvularina (**1**) foi isolada na década de 60 a partir do meio de cultura do fungo *Curvularia* sp. Os primeiros estudos biossintéticos das curvularinas demonstraram que a unidade macrocíclica era oriunda de oito unidades intactas de acetato.¹ Recentemente isolamos a ciclotiocurvularina A (**2**) após o desenvolvimento de um planejamento experimental para as condições de cultivo do fungo *Penicillium* sp. DRF2. A ciclotiocurvularina A apresenta um resíduo 3-mercaptolactato (**3**) condensado à sua unidade macrocíclica. Experimentos de incorporação de precursores isotopicamente marcados com ¹³C foram feitos a fim de estabelecer a rota biossintética de **2**. Cada extrato bruto foi purificado por CLAE-UV, a fim de obter **2** enriquecida com diferentes precursores. Dados de (+)-ESIMS e RMN-¹³C foram utilizados para confirmar a incorporação.

Resultados e Discussão

Quantidades crescentes de acetato de sódio não afetaram as condições de crescimento nem o perfil metabólico do fungo *Penicillium* sp. DRF2. Concentrações de L-cisteína acima de 0,2 mM/L estimularam a esporulação do fungo, afetaram sua morfologia e a produção de ciclotiocurvularina A foi reduzida. A condição ótima de cultivo do fungo *Penicillium* sp. DRF2 para a produção de **2** possui 2 nmol/L Na₂SO₄, o que pode ter estimulado a sua produção, já que cisteína pode ser produzida por fungos a partir de fontes de sulfato inorgânico.² Experimentos de incorporação com [1-¹³C]acetato e [1,2-¹³C₂]acetato indicaram a presença de oito unidades de acetato no anel benzeno e na unidade macrocíclica da ciclotiocurvularina A. Já o experimento com adição de [U-¹³C¹⁵N]-L-cisteína indicou a incorporação desse aminoácido no resíduo de 3-mercaptolactato condensado a estrutura macrocíclica (figura 1). Duas vias de biossíntese para a ciclotiocurvularina A podem ser propostas: a incorporação de L-cisteína ocorre após sua transformação em 3-mercaptolactato, espécie reativa a ser condensada a cadeia policetídica antes (rota a), ou depois (rota b) da construção do anel aromático e ciclização da macrolactona. Na rota (b) o 3-mercaptolactato

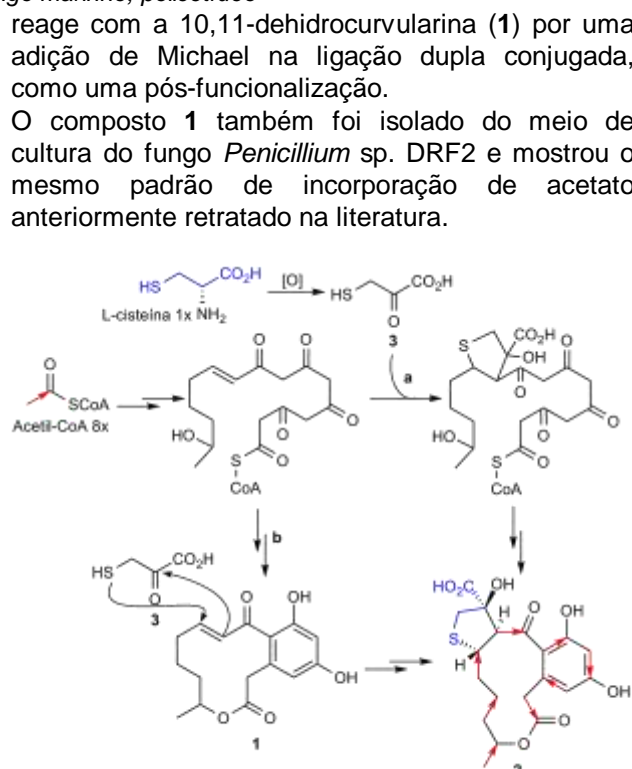


Figura 1. Propostas de rotas biossintéticas para a ciclotiocurvularina.

Conclusões

Nossos resultados determinaram inequivocamente o aminoácido L-cisteína como precursor do resíduo 3-mercaptolactato da ciclotiocurvularina. Além disso, esses resultados indicam um desvio na rota de PKS, levando a formação da ciclotiocurvularina por uma inesperada rota PKS-NRPS.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fapesp pelo apoio financeiro e à Capes e CNPq pelas bolsas de estudo.

¹ Birch, A.J.; Musgrave, O.C.; Rickards, R.W. and Smith, H., *Studies in relation to biosynthesis, Part XX**, **1959**, 3146. Arai, K.; Rawlings, B.J.; Yoshizawa, Y. and Vederas, J. C., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3391.

² Paszewski, A. *Acta Biochim. Polonica*, **1993**, *40*, 445; Grynberg, M.; Topczewski, J.; Godzik, A.; Paszewski, A. *Microbiology*, **2000**, *146*, 2695.