

Determinação da configuração absoluta da (S)-N-heptanoil-homosserina lactona produzida por *Pantoea ananatis*.

Armando Mateus Pomini (PG), Anita Jocelyne Marsaioli (PQ)*. anita@iqm.unicamp.br

Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas. Caixa Postal 6154, CEP 13084-862, Campinas, São Paulo.

Palavras Chave: *Pantoea ananatis*, acil-homosserina lactona, configuração absoluta.

Introdução

As acil-homosserina lactonas são produtos naturais extremamente importantes uma vez que são empregados por bactérias Gram-negativas em diversos processos comunicativos, regulando a expressão de fatores de virulência como exoenzimas, exopolissacarídeos e antibióticos.¹ De uma forma geral, as principais variações estruturais desta classe de metabólitos são encontradas na cadeia acila lateral, que pode variar em número de átomos de carbono, presença de hidroxila ou carbonila na posição 3, ou ainda insaturações.¹

Recentemente, nosso grupo de pesquisas reportou a produção de três acil-homosserina lactonas pela bactéria fitopatogênica *Pantoea ananatis*.² Esta bactéria é um dos principais patógenos da cultura da cebola e também ataca o abacaxi, o eucalipto e o milho.²

A N-heptanoil-homosserina lactona (**1**) é uma substância sinalizadora rara produzida pela bactéria *P. ananatis*.² A característica mais interessante desta substância é a presença de uma cadeia acila com número ímpar de átomos de carbono. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a configuração absoluta desta substância.

Resultados e Discussão

A bactéria *P. ananatis* foi cultivada em meio caldo nutriente suplementado com propionato de sódio. O extrato acetato de etila obtido a partir de 8 litros do cultivo da bactéria foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel. A substância **1** foi identificada por CG-EM como componente minoritário em uma das frações. A substância foi identificada pela comparação de seu espectro de massas e co-injeção com um padrão sintético.²

A configuração absoluta da (S)-N-heptanoil-homosserina lactona foi estabelecida através da técnica de cromatografia gasosa acoplada a detecção por ionização em chama, utilizando-se a coluna quiral Chirasil (Chrompack). Realizou-se a comparação dos tempos de retenção e co-injeção com padrões sintéticos. Identificou-se a configuração absoluta (S), com um excesso enantiomérico de 90%.

Em todos os casos reportados na literatura, as acil-homosserina lactonas apresentaram configuração

absoluta (S).² Isto pode ser compreendido analisando-se a origem biossintética destes metabólitos. Estas substâncias são sintetizadas por enzimas homólogas de *LuxI*, que utilizam como substratos um acil-ACP e a S-adenosil metionina (SAM). Assim, a configuração absoluta (S) do produto final é proveniente da configuração (S) da porção aminoácido da SAM.³

Nos poucos casos descritos na literatura, a substância **1** ocorre em pequenas quantidades em microrganismos que produzem quantidades comparativamente grandes de N-hexanoil-homosserina lactona.^{2,4} O fato da substância **1** produzida por *P. ananatis* também possuir configuração absoluta (S) indica que ela provavelmente deve compartilhar do mesmo mecanismo de biossíntese das demais acil-HSLs, reforçando a idéia de que a sua produção ocorre devido à grande semelhança estrutural entre o heptanoil-ACP e o hexanoil-ACP, que são recebidos pelo sítio ativo da enzima homóloga de *LuxI*, sintetizadora das substâncias sinalizadoras em bactérias Gram-negativas.⁴

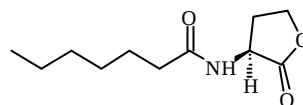


Figura 1. (S)-N-heptanoil-homosserina lactona produzida por *Pantoea ananatis*.

Conclusões

Este trabalho foi o primeiro a caracterizar a configuração absoluta de uma substância sinalizadora com cadeia lateral acila com número ímpar de átomos de carbono. A configuração absoluta (S) é uma evidência de que esta substância deve compartilhar dos mesmos mecanismos de biossíntese de outras acil-homosserina lactonas que ocorrem em maior abundância, e reforça a idéia da aceitação de acil-ACPs com cadeias laterais semelhantes pelas enzimas sintetizadoras *LuxI*.

Agradecimentos

Fapesp (05/02934-4).

¹ Whitehead, N. A., Barnard, A. M. L., Slater, H., Simpson, N. J. L., Salmond, G. P. C. *FEMS Microbiol. Rev.*, **2001**, 25, 365-404. ² Pomini, A. M., Araújo, W. L., Marsaioli, A. J. *J. Chem. Ecol.*,

2006, 32, 1769-1778 e referências citadas no artigo. ³ Schaefer, A. L., Val, D. L., Hamzelka, B. L., Cronan, J. E., Greenberg, E. P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, 93, 9505-9509. ⁴ Lithgow, J. K., Wilkinson, A., Hardman, A., Rodelas, B., Wisniewski-Dyé, F., Williams, P., Downie, J. A. *Mol. Microbiol.*, **2000**, 37, 81-97.