

Otimização da produção de oxalina pela linhagem de *Penicillium oxalicum* isolada de ambiente marinho

Eli F. Pimenta¹ (PG)*, Mirna H. R. Selegim² (PQ), Aristeu G. Tinini³ (PQ), Roberto G. S. Berlinck¹ (PQ). email: eliferp@iqsc.usp.br

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

Palavras Chave: *Microrganismos*, *Penicillium oxalicum*, *oxalina*, *otimização*.

Introdução

A linhagem de fungo *Penicillium oxalicum* é conhecida desde 1915 quando foi isolada por Thom e Currie, sendo uma linhagem utilizada na agricultura, alimentos e na produção de enzimas. O estudo dos metabólitos secundários desta espécie mostrou uma diversidade química limitada, tendo sido relatados na literatura o ácido secalônico² e a oxalina³. Este último apresenta potente atividade citotóxica, similar a do Taxol⁴. Portanto, a oxalina³ é considerada um dos metabólitos secundários mais importantes isolado do *Penicillium oxalicum*.

Em 2003, nosso grupo isolou *P. oxalicum* a partir de amostras de sedimentos marinhos do litoral de São Sebastião – SP. A avaliação do extrato bruto desta linhagem indicou potente atividade citotóxica. Em 2005, iniciamos estudos de otimização das condições de crescimento e produção de metabólitos secundários por fungos marinhos. Dentre as linhagens selecionadas, incluímos *P. oxalicum* devido à atividade citotóxica apresentada pelo seu extrato bruto. O desenvolvimento da metodologia de otimização incluiu o uso de quimiometria para otimizar a produção de metabólitos monitorando-se por HPLC, sem conhecermos a natureza dos compostos sob monitoramento. A posterior identificação da oxalina como sendo o principal componente do meio de cultura de *P. oxalicum* foi realizada por LC-PDA-MS e por RMN. Tais resultados são apresentados neste trabalho.

Resultados e Discussão

A linhagem de fungo *Penicillium oxalicum* foi cultivada em meio de cultura líquido em água do mar artificial, pH 8,0, temperatura de 25 °C e tempo de incubação de 7 dias.

Os experimentos de otimização das condições de crescimento e produção de metabólitos secundários incluíram variação de composição do meio (em termos de nutrientes, salinidade e pH), temperatura e número de dias de incubação. A metodologia de quimiometria foi realizada com o uso de planejamento fatorial fracionário com ponto central. Após realizar todos os experimentos (16 do planejamento com 3

pontos centrais), os meios de cultura foram filtrados, extraídos e as frações analisadas por HPLC-PDA. Os dados obtidos das áreas dos picos de cada cromatograma (obtidos da injeção de frações ou extratos provenientes de cada experimento de crescimento) foram analisados por métodos quimiométricos de primeira (uma variável) e segunda ordem (duas variáveis) e pela análise da superfície de resposta. As condições otimizadas encontradas para a produção de oxalina foram: 20% da composição original de sais; 60% da composição original de nutrientes; 14 dias de incubação; pH 8 e temperatura de 30°C. Foram feitas análises por LC-PDA-MS e o pico majoritário das frações analisadas foi identificado como sendo a oxalina (figura 1). Sendo assim, a metodologia desenvolvida para a otimização das condições de crescimento e produção de metabólitos secundários desconhecidos por fungos pôde ser validada.

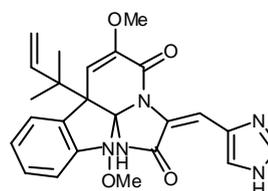


Figura 1. Oxalina

Conclusões

A otimização das condições de crescimento e produção de metabólitos secundários por *P. oxalicum* mostrou ser uma poderosa ferramenta, mesmo para otimizar a produção de metabólitos desconhecidos, mostrando que a quimiometria pode ser uma metodologia excelente para tais objetivos.

Agradecimentos

Os autores são gratos ao CEBIMar pelo apoio logístico e à FAPESP pelo apoio financeiro, processos (06/61693-0; 03/08899-0 e 05/60175-2).

¹ Currie, J. N.; Thom, C. I. *Biological Chemistry*, **1915**, v. 22, p. 287-293.

² Steyn, P. S. *Tetrahedron*, **1970**, v. 26, p. 51-57.

³ Nagel, D. W.; Pachler, K. G. R.; Steyn, P. S.; Vleggaar, R.; Wessels, P. L. **1976**, v. 32, p. 2625-2631.

⁴ Koizumi, Y.; Arai, M.; Tomoda, H.; Omura, S. *Biochimica et Biophysica Acta*, **2004**, p. 47-55.