

Detecção de cefamicina C produzida por cultivo de *Streptomyces clavuligerus* utilizando espectrometria de massas.

Jaine H. H. Luiz de Oliveira¹ (PQ)*, Ana Claudia Granato¹ (PQ), Marlei Barboza¹ ((PQ), Carlos O. Hokka¹ (PQ). *jainehh@gmail.com

¹Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos

Palavras Chave: antibióticos, β -lactâmico, cefamicina C, *Streptomyces clavuligerus*, espectrometria de massas..

Introdução

A descoberta da cefamicina C (CefC) representa um marco no desenvolvimento dos antibióticos, pois, pela primeira vez, uma molécula com atividade antibacteriana mostrou-se resistente a β -lactamases de bactérias Gram-negativas. A CefC não é utilizada clinicamente, porém, é o precursor de vários antibióticos de importância terapêutica, chamados cefâmicos. *S. clavuligerus*, amplamente estudado por Liras *et al*¹, é dos mais utilizados industrialmente tendo a capacidade de produzir também o AC, utilizado comercialmente em combinação com amoxicilina Clavulin®. A CefC é produzida por grandes empresas farmacêuticas como a Eli Lilly & Co., Takeda Industries e Otsuka Pharmaceuticals^{2,3}. Para a produção da CefC são utilizados actinomicetos, sendo que apenas a Merck & Co. Inc. emprega *Nocardia lactamdurans*², este antibiótico é produzido por fermentação para depois ser transformado quimicamente. Poucos artigos são encontrados sobre a CefC e muito pouco se sabe sobre seu isolamento e purificação. Algumas patentes descrevem seu isolamento, mas os procedimentos são descritos superficialmente, além disso, a CefC não se encontra disponível comercialmente nem mesmo sob a forma de reagente.

Resultados e Discussão

O caldo utilizado para os experimentos foi obtido de cultivo utilizando-se *Streptomyces clavuligerus* ATCC 27064. Para a limpeza do mesmo utilizou-se técnicas de microfiltração, ultrafiltração, resina de adsorção Amberlite XAD-4 e utilização de resina de troca iônica QXL. As frações obtidas a partir da resina QXL foram analisadas por atividade contra *E.coli* (bactéria sensível a cefamicina) e as frações com maior halo de inibição foram analisadas por RMN-¹H. As análises dos espectros de RMN não foram conclusivas em relação ao antibiótico esperado, porém devido à presença de atividade contra a bactéria em algumas frações, optou-se por uma técnica mais sensível, a Espectrometria de Massas (EM). Por EM detectou-se, em uma das frações, um íon cuja relação *m/z* é igual a 447,2 (baixa resolução) coincidente com a massa molecular da cefamicina

C protonada $[M+H]^+$. ($C_6H_{22}N_4O_9S$: Massa Exata Calculada = 446,1108). Através da análise do espectro de massas pode-se concluir que esta amostra indicou a presença de cefamicina C, que eluiu em 4,8 min (cromatograma de íons), estando, porém, em quantidade pequena, o que impossibilitou a visualização de seus sinais de hidrogênios nos espectros de RMN.

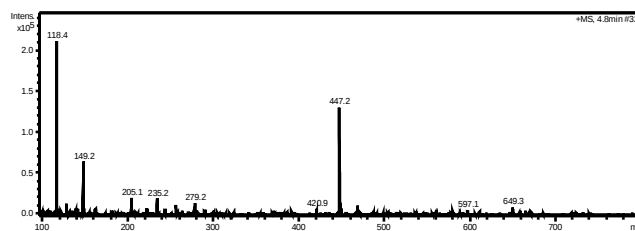


Figura 1. Espectro de massas *full scan* da amostra onde detectou-se Cef C, obtida via ESI+.

Conclusões

A fração estudada apresentou baixa concentração de CefC, o que dificultou sua identificação por espectroscopia de RMN, sendo portanto utilizada a técnica de espectrometria de massas capaz de detectar compostos presentes em meio complexo em baixas concentrações. Este resultado é de fundamental importância para o desenvolvimento de pesquisas e do processo de produção.

Agradecimentos

À FAPESP pelo auxílio financeiro do Projeto Temático (Proc. 05/55079-4) e pelas bolsas de PD (Processos 04/15540-1 e 06/59474-8).

¹ Liras, P. & Rodríguez-Garcia, A. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2000, 54, 467-475.

² Demain, A. L.; Elander, R. P. The β -lactam antibiotics: past, present and future. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1999, 75, 5-19.

³ Sridhar, P. 2002 in <http://www.expresspharmapulse.com/20020131/research1.shtml>