

Estudo biossintético de amidas bis-fenilpropanóidicas produzidas pelo fungo *Penicillium brasilianum*.

Taícia P. Fill¹ (PG)*, Edson Rodrigues Filho¹ (PQ)

taicia@gmail.com, edinho@pesquisador.cnpq.br

1. Laboratório de Bioquímica Micromolecular de Microorganismos (LaBioMMI) – UFSCar - São Carlos-SP

Palavras Chave: Amidas Bis-fenilpropanóidicas, *Penicillium*, biossíntese.

Introdução

As amidas Brasilamida A, e B (Figura 1), produzidas por uma espécie de *Penicillium* isolada das raízes de *Melia azedarach* (Meliaceae)¹, são raros exemplos de bis-fenilpropanóides produzidos por microorganismos. Além da atividade antibiótica, essas substâncias apresentaram atividade inseticida contra larvas do bicho-da-seda, *Bombix Mori*.²

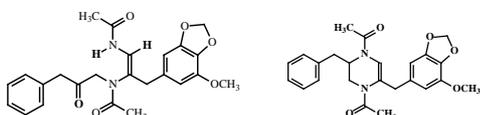


Figura 1: Estruturas moleculares das substâncias Brasilamida A e B respectivamente.

Resultados e Discussão

O trabalho teve como objetivo estudar a incorporação de L-fenilalanina na biossíntese de amidas bis-fenilpropanóidicas, através da adição de precursores isotopicamente marcados ao meio de cultivo. Neste sentido, o fungo *P. brasilianum* foi cultivado em meio Czapek com a adição de 25mg do aminoácido L-fenilalanina isotopicamente marcado ao meio de cultivo ([2-¹³C]-Phe). A extração foi realizada depois de 18 dias de cultivo adicionando-se Etanol ao micélio do microorganismo. Posteriormente, estes extratos, assim como a substância Brasilamida A padrão, foram submetidos às análises por ESI/MS(+) (QuattroLC – MICROMASS).

Nas análises apresentadas na figura 2 observam-se os espectros de massas referentes à substância Brasilamida A padrão (MM=438) sem enriquecimento isotópico (A), e ao extrato do cultivo do fungo com a adição de [2-¹³C-Phe] (Figura 2 B), Em B o pico com relação *m/z* 441 é acentuado no espectro quando comparado ao padrão. O resultado comprova a incorporação de duas unidades do aminoácido Phe na produção das Brasilamidias.

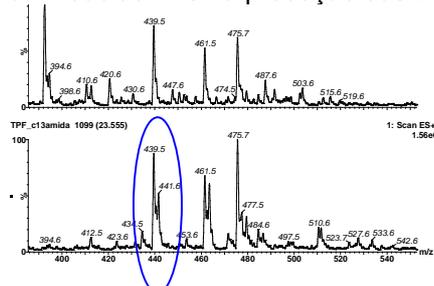


Figura 2: Espectros de íons produtos obtidos para o padrão (A) e para o extrato com adição de [2-¹³C-Phe] (B).

Foram realizados experimentos de RMN ¹³C da Brasilamida A purificada dos extratos com [2-¹³C]-Phe e verificou-se os carbonos enriquecidos (Figura 3).

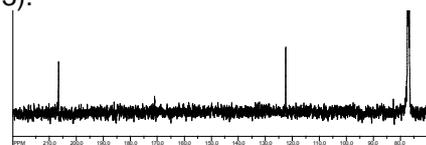


Figura 3: Espectro de RMN ¹³C da substância Brasilamida A com enriquecimento (400MHz; CDCl₃).

Observa-se no espectro de RMN ¹³C a intensificação dos sinais dos carbonos C-8 (122,5 ppm) e C-11 (206,6 ppm) da estrutura molecular da substância Brasilamida A conforme assinalado na figura 4 apresentada.

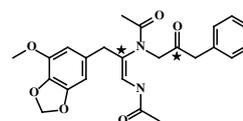


Figura 4: Estrutura molecular da Brasilamida A com os carbonos enriquecidos assinalados.

Os resultados indicam que a rota biossintética da Brasilamida A ocorre através do caminho geral dos fenilpropanóides, os quais contêm boa parte das enzimas caracterizadas. O primeiro passo seria a formação do ácido cinâmico a partir do aminoácido L-fenilalanina via a ação da enzima Fenilalanina-amônioliase (PAL). Os precursores (ácido cinâmico e ácido sináptico) formados se condensam através de um ataque nucleofílico e enzimas acetyl-Coa são responsáveis pela acetilação nos átomos de nitrogênio, levando a estrutura molecular da substância Brasilamida A apresentada. A primeira etapa da rota biossintética foi avaliada através de ensaios enzimáticos com a enzima PAL, onde se visualizou a formação do ácido cinâmico a partir da Phe através de monitoramento por HPLC/UV.

Estabeleceu-se a rota biossintética das amidas bis-fenilpropanóidicas através do caminho dos fenilpropanóides, através de estudos de EM e RMN

Agradecimentos

Aos órgãos financiadores FAPESP, CAPES e CNPq

¹ Santos, M. R.G.; Tese de doutorado, programa de Pós-Graduação em Química-UFSCar, 2003,443pp

² Fujita, T.; Makishima, D.;Hayashi, H. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, *66*(8), 3415