

## Aplicação de LC-MS em estudos de desrepliação de extrato bruto de actinobactéria para a identificação de compostos fitotóxicos.

Ana Flávia Canovas Martinez<sup>1</sup> (PG)\*, Flávia Mandolesi Pereira de Melo<sup>2</sup> (PG), Itamar Soares de Melo<sup>2</sup> (PQ), Luiz Alberto Beraldo de Moraes<sup>1</sup> (PQ).

anaflavia@pg.ffclrp.usp.br

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo - FFCLRP - Departamento de Química;

<sup>2</sup> Laboratório de microbiologia ambiental da Embrapa-Jaguariúna.

Palavras Chave: Espectrometria de massas, desrepliação, actinobactérias, fitotoxinas.

### Introdução

Embora seja considerado eficaz no controle de um número considerável de ervas daninhas, o uso de herbicidas sintéticos tem sido questionado quanto ao seu impacto ambiental<sup>1</sup>. A maioria das fitotoxinas produzidas por microrganismos possui vantagens significativas frente aos herbicidas sintéticos como tempo de meia vida relativamente curto e são mais facilmente biodegradáveis podendo, muitas vezes, ser utilizadas como modelo no desenvolvimento de novos herbicidas menos agressivos<sup>1</sup>. A aplicação da espectrometria de massas (MS) e o seu acoplamento com técnicas de separação, especialmente a cromatografia líquida (LC-MS), tem sido reconhecida como a técnica de separação direta mais eficiente em análises e caracterização de produtos naturais. A espectrometria de massas, especialmente quando é possível a realização da fragmentação dos compostos (MS/MS), pode ser usada para detectar analitos com maior sensibilidade e seletividade, através da análise da razão massa-carga ( $m/z$ )<sup>2</sup>. A desrepliação consiste em um processo de reconhecimento e eliminação prévia de substâncias isoladas presentes em um extrato bruto. O processo de desrepliação é importante porque ajuda a priorizar extratos para isolamento químico e agrupar amostras que contêm componentes ativos desconhecidos com perfis de desrepliação similares<sup>3</sup>.

### Resultados e Discussão

A desrepliação foi aplicada no extrato bruto da actinobactéria 17 (39 PL) fermentada em meio BD. Foi empregada a espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI) acoplada com a cromatografia líquida e por inserção direta (ID). O espectro de massas por inserção direta apresentou uma grande quantidade de sinais, o que indica a diversidade de metabólitos presentes no extrato ativo. A Figura 1 apresenta o espectro de massas obtido em modo negativo (ESI-). Os sinais das regiões de  $m/z$  430 a 560 Da e a região de  $m/z$  650 a 830 Da foram agrupados em duas regiões distintas, de acordo com o perfil de fragmentação observado, através de experimentos de dissociação induzida por colisão (CID).

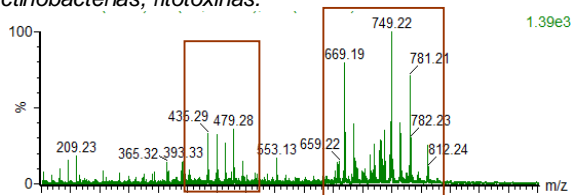


Figura 1. Espectro de massas (ESI-) do extrato bruto da actinobactéria 17 (39 PL).

Com base nas buscas nos bancos de dados e nos dados espectroscópicos da literatura, os estudos de desrepliação identificaram as classes de compostos julicromes (na região de  $m/z$  650 a 830 Da) e das luminacinas (na região de  $m/z$  430 a 560 Da). Todavia, os estudos guiados por bioensaios revelaram que a luminacina C é o composto ativo presente no extrato.

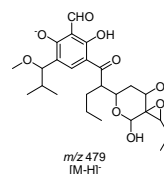


Figura 2. Estrutura da luminacina C.

### Conclusões

A metodologia utilizada para a desrepliação do extrato mostrou-se bastante eficiente e rápida, uma vez que possibilitou a identificação de uma grande variedade de compostos como julicromas e as luminacinas, sem a necessidade de fracionamento ou purificação por técnicas clássicas de separação como a cromatografia líquida por coluna ou de alta eficiência.

### Agradecimentos

Agradecimentos ao CNPq, a CAPES e à FAPESP pelo apoio financeiro. Ao laboratório de microbiologia ambiental da Embrapa-Jaguariúna.

<sup>1</sup> Saxena S., Pandey A. K.; Applied Microbiology and Biotechnology 2001, 55, 395 – 403.

<sup>2</sup> Cheng Ka-Wing, Chen F., Wang M., in Colegate S.M., Molyneux R.J. Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination, 2008, Second Edition, CRC Press, 245 – 266.

<sup>3</sup> Buss A.D., Butler M.S., Drug Development Reserch 2004, 62, 362 – 370.