

Determinação de Cefamicina C e Ácido clavulânico produzidos por *Streptomyces clavuligerus* por ESI LC-MS.

Diana Jimena López* (PG), Taícia Pacheco Fill (PG), Edson Rodrigues Filho (PQ).

Laboratório de Bioquímica Micromolecular de Microorganismos, Departamento de Química, UFSCar
*dianajimena@gmail.com

Palavras Chave: Antibióticos β Lactâmicos, *Streptomyces clavuligerus*, Espectrometria de massas tandem.

Introdução

Streptomyces clavuligerus é um actinomiceto amplamente reconhecido por produzir importantes antibióticos β -lactâmicos comerciais entre eles o ácido clavulânico, um inibidor de β -lactamases e a cefamicina C, um precursor na síntese de cefalosporinas¹(Figura 1). Estes compostos se distinguem por sua instabilidade, labilidade térmica e alta polaridade o que limita a sua determinação por técnicas convencionais de análises que precisam de longos preparos de amostra. LC/MS tem se tornado uma técnica eficiente na caracterização de metabólitos secundários em matrizes complexas sem a necessidade do isolamento².

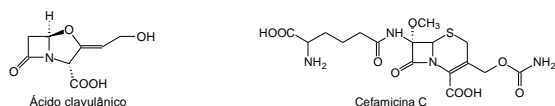


Figura 1. Ácido clavulânico e Cefamicina C.

Resultados e Discussão

O trabalho teve com objetivo determinar a presença de antibióticos β -lactâmicos em cultivos de *S. clavuligerus*. Neste sentido o microorganismo foi cultivado em meio líquido suplementado com soytone e triptona. O extrato do microorganismo e substancias padrão de antibióticos β -lactâmicos, foram submetidos às análises por ESI-MS/MS

Nas análises mostradas na figura 2 observam-se o espectro de íons produtos do ácido clavulânico padrão (a) e os cromatogramas obtidos por SRM do extrato aquoso (b), onde os íons monitorados foram m/z 198, m/z 136 e m/z 108.

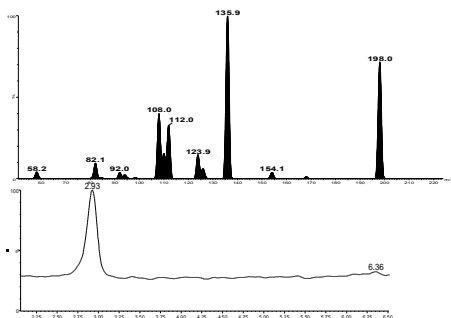


Figura 2. Espectro de íons produtos do ácido clavulânico e cromatograma de SRM do extrato.

O resultado comprova a presença de ácido clavulânico no extrato produzido pelo microorganismo em estudo e a viabilidade da técnica na determinação desta substancia.

Pela comparação do perfil de fragmentação de substâncias β -lactâmicas semelhantes a cefamicina C, como a cefalosporina C e a cefoxitina, foi possível a determinação da cefamicina C segundo o espectro mostrado na figura 3.

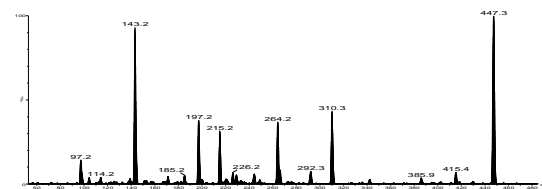


Figura 3. Espectro de íons produtos para m/z 447.

De acordo com o espectro de íons produtos obtido foi proposto um mecanismo de fragmentação que confirmasse a presença da cefamicina C.

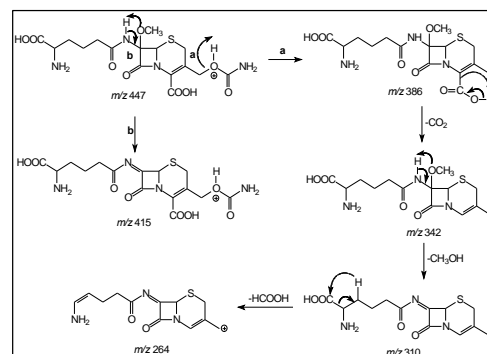


Figura 4. Proposta de fragmentação para cefamicina C.

conclusões

A metodologia proposta por LC/MS para as análises de ácido clavulânico e cefamicina c se mostrou viável na determinação desta classe de substancias em matrizes complexas.

Agradecimentos

FAPESP, FINEP, CNPq e CAPES

1. DEMAIN, A. L.; ELANDER, R. P. *Antonie Van Leeuwenhoek*, v. 75, p. 5-19, 1999.
2. Zahn, J.; Higgs, R. E., Hilton, M. D.. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000, v.67, 377-386.