

EXPLORANDO ELICIADORES QUÍMICOS PARA PROSPECÇÃO DE PRODUTOS NATURAIS DE CIANOBACTÉRIAS

Heloísa Maria Muneratti Amorim

Jaewon Yoon, Márcio Barczynszyn Weiss

Camila Manoel Crnkovic

Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo

heloisa.amorim@usp.br

Objetivos

Produtos naturais (PNs) microbianos apresentam características interessantes para aplicações farmacológicas, dificilmente obtidas por síntese química.¹ Porém, recentemente, observou-se uma redução na descoberta desses compostos, necessitando aplicar estratégias diversificadas para a exploração do metabolismo secundário microbiano. O estudo de organismos pouco explorados - tal qual as cianobactérias - e a alteração de condições de cultivo para indução de vias biossintéticas são estratégias que podem levar à descoberta de moléculas inéditas.² Nesse estudo, quatro linhagens de cianobactérias brasileiras foram cultivadas empregando sete composições de meio de cultivo, visando a comparação do perfil metabólico sob cada condição.

Métodos e Procedimentos

As linhagens *Anagnostidinema amphibium* CCIBt3214, *Brasilonema octagenarum* CCIBt3551, *Desertifilum tharense* CCIBt3265 e *Komarekiella atlantica* CCIBt3307 (número de cadastro no SisGen A531C68) foram cultivadas em triplicatas biológicas sob as seguintes condições de cultivo: controle (meio BG-11 ou ASM-1), meio de cultivo Z e meio controle suplementado por DMSO, fertilizante rico em aminoácidos, meropenem, eritromicina e imipenem-cilastatina.

Ademais, foram preparados brancos, compostos por cada condição de cultivo sem a adição de inóculo biológico. Após oito semanas, as biomassas e os brancos foram coletados por centrifugação, liofilizados e macerados com metanol. Os extratos obtidos foram submetidos a análise por HPLC-MS/MS. Efetuou-se o pré-processamento dos dados através do software DataAnalysis. Obtiveram-se redes moleculares pela ferramenta Molecular Networking na plataforma GNPS, que agrupa espectros de MS/MS presentes em diferentes amostras de acordo com seu padrão de fragmentação, obtendo espectros consenso, denominados “*features*”, que são posteriormente agrupados em famílias moleculares, ou “*clusters*”, de acordo com sua similaridade espectral.³ A plataforma SIRIUS foi utilizada para obtenção de fórmulas moleculares putativas para os *features* no processo de desreplicação. Pesquisas nas bases de dados PubChem, NPAtlas e Dictionary of Natural Products foram realizadas para anotação.

Resultados

Apenas as condições em que houve crescimento e acúmulo de biomassa foram analisadas por HPLC-MS/MS. A análise por redes moleculares permitiu observar, para cada linhagem, o número de *features* detectados

quando cultivadas sob diferentes condições (Figura 1). Observou-se uma única linhagem com maior diversidade química no controle, tendo as demais produzido maior variedade de metabólitos em outras composições de meio de cultivo, demonstrando a efetividade da alteração desse parâmetro como estratégia para indução das vias biossintéticas.

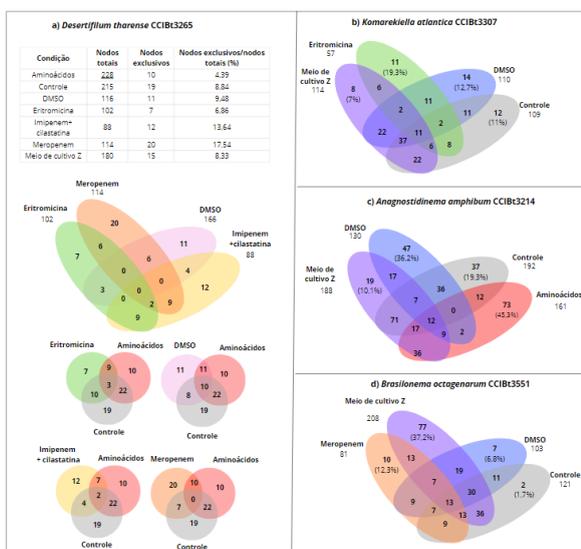


Figura 1: Diagramas de Venn, representando o número de *features* observados sob cada condição de cultivo para as linhagens a) CCIBt3265, b) CCIBt3307, c) CCIBt3214 e d) CCIBt3551.

Para a linhagem CCIBt3265, as condições de estresse químico possuem mais *features* em comum com o controle e suplementação com aminoácidos do que entre si mesmas, demonstrando que os diferentes estressores agem em vias biossintéticas distintas. A linhagem CCIBt3551 apresentou maior número de *features* totais e exclusivos nas amostras cultivadas em meio Z. Nessa condição, apresentou dois *clusters* exclusivos, que foram priorizados para desreplicação, resultando nas fórmulas moleculares putativas dispostas na Figura 2. Buscas em bases de dados não levaram à correspondência de PNs produzidos por microrganismos, indicando um possível ineditismo químico dessas moléculas.

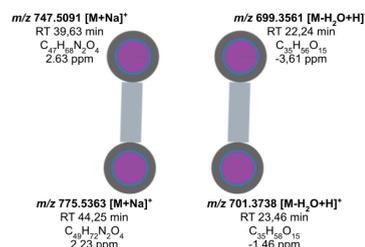


Figura 2: Clusters da linhagem CCIBt3551, detectados exclusivamente nas amostras mantidas sob meio de cultivo Z.

Conclusões

Cada linhagem respondeu de forma distinta às diferentes condições de cultivo, destacando o potencial metabólico das cianobactérias. Para três das quatro linhagens analisadas, a condição que promoveu maior diversidade química não foi o controle, demonstrando a efetividade da variação da composição do meio de cultivo como estratégia de alteração do perfil químico microbiano. Ademais, os *features* da CCIBt3551 exclusivos do meio de cultivo Z foram desreplicados e, após pesquisas em bases de dados, constatou-se o possível ineditismo químico dessas moléculas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP (processos no. 2023/03532-5, 2022/02872-4 e 2024/02692-1) e à CAPES (bolsa Doutorado-DS)

Referências

- 1 ATANASOV, Atanas G. *et al.* Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 20, n. 3, p. 200-216, 2021.
- 2 ROMANO, Stefano *et al.* Extending the “one strain many compounds” (OSMAC) principle to marine microorganisms. *Marine Drugs*, v. 16, n. 7, p. 1-29, 2018.
- 3 WANG, Mingxun *et al.* Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nature Biotechnology*, v. 34, n. 8, p. 828-837, 2016.