

Síntese de probes fluorescentes visando o desenvolvimento analítico alternativo para microcistinas.

André Filipe Rodrigues-Oliveira (PG), Diogo Oliveira-Silva (PQ)*

e-mail: andre.filipe@unifesp.br

Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas (ICAQF), UNIFESP– Campus Diadema

Palavras Chave: Microcistinas, Cianotoxinas, Probe fluorescente.

Introdução

As cianobactérias habitam principalmente corpos d'água e apresentam crescimento massivo em ambientes eutrofizados (alta concentração de nutrientes)¹. Microcistinas (MC) são toxinas produzidas por cianobactérias, sendo uma das mais importantes classes de cianotoxinas devido à sua atividade hepatotóxica. As MC são constituídas por um ciclo contendo 7 aminoácidos, sendo dois deles não usuais (Adda e Mdha) e dois usualmente variáveis, nas posições 2 e 4, que dão nome às MC. Ao todo, mais de 80 variantes já foram descritas².

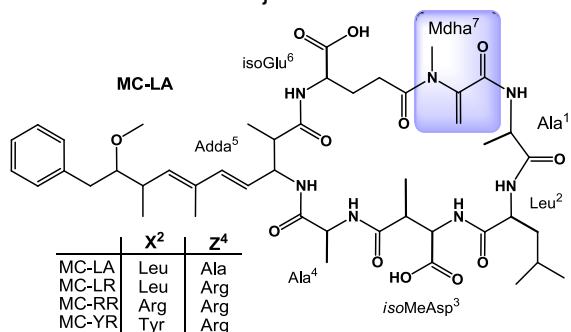


Figura 1: Estrutura da MC-LA.

O limite máximo de MC em águas preconizado pela Organização Mundial da saúde (OMS) é de 1 µg/L, se fazendo necessárias análises de alta sensibilidade que geralmente possuem alto custo. O presente trabalho se propõe a sintetizar moléculas fluorescentes que possam ser usadas como probes para microcistinas, a fim de se desenvolver um método analítico sensível e de menor custo para beneficiar regiões de baixo poder aquisitivo, mais afetadas com o contato e consumo de águas contaminadas. A adição do probe às MC é necessária, visto que não possuem fluorescência intrínseca.

Resultados e Discussão

Estudos preliminares mostraram que as MC possuem boa reatividade em adição de Michael frente à grupos tióis devido à dupla ligação conjugada presente na porção Mdha (**Figura 1**). Verificou-se que o probe indicado para MC deve ter uma porção fluorescente não muito próxima ao grupamento tiól para que não haja impedimento estérico (**Figura 2**).

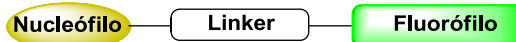


Figura 2: Estrutura genérica para os probes.

O grupamento tiól, proveniente do 2-mercaptoetanol, foi protegido através da formação de pontes de dissulfeto utilizando ferricianeto de potássio como agente oxidante, obtendo-se 94% de rendimento. Esse intermediário (**In1**) foi utilizado na síntese dos dois probes propostos.

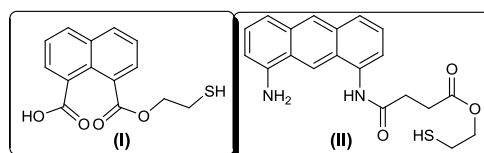


Figura 3: Probes fluorescentes propostos.

Dois grupamentos aromáticos de alta absorção óptica foram propostos para servir de porção fluorescente: o antraceno e o naftaleno. O probe (I) foi sintetizado na forma de dímero (através de ponte de dissulfeto), reagindo **In1** e anidrido naftálico em DMF. A reação foi feita a 130 °C por 1h em microondas.

A síntese do probe (II) parte de **In1** reagindo com anidrido succínico em meio básico e DCM, reação com alta taxa de conversão. O produto (**In2**) foi então reagido com a 1,8-antracenediamina e DCC/DMAP, dando origem ao produto de monoacoplamento desta amina ao **In2**. Os experimentos foram acompanhados por ESI-MS/MS.

Conclusões

Resta uma etapa de redução para a síntese dos dois probes, podendo-se optar pela decarbonilação (dependendo da seleção do agente redutor), o que aumentaria a estabilidade dos probes sem comprometer sua eficácia. O grupamento naftaleno pode ser modificado para que apresente maior fluorescência. A reatividade dos probes será testada na detecção das MC.

Agradecimentos

Shimadzu do Brasil, CAPES e CNPq.

¹ Suput, D., Effects of Microcystins, Cyanobacterial Toxins, on Mammalian Cells and Organs. Acta Chimica Slovenica, 2011.58(4):p.708-716.

² Dörr, F.A. e tal. Rapid Commun. Mass Spectrom., 2011, 25, 1981