

Síntese de *D*-(iso)Glu-Mdha-*D*-Ala para o desenvolvimento de imunoensaios

Raphael S. Pereira (IC)*, Sidnei Moura (PG), Ernani Pinto (PQ)

*email: raphaelpereira2006@yahoo.com.br

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo - Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - CEP: 05508-900 São Paulo, SP.

Palavras Chave: *Microcistinas, Síntese, Peptídeos.*

Introdução

Microcistinas (MC) são metabólitos secundários produzidos por alguns gêneros de cianobactérias, como *Microcystis*¹. São altamente hepatotóxicas para humanos, inibindo fosfatases e prejudicando a integridade da membrana celular². O crescente número de incidentes envolvendo MC aumenta o interesse por métodos eficientes para sua detecção.

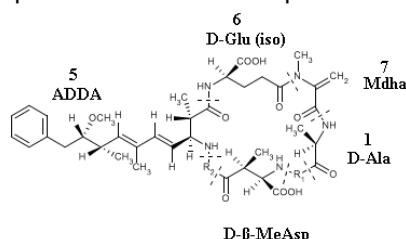


Figura 1. Estrutura genérica das MC.

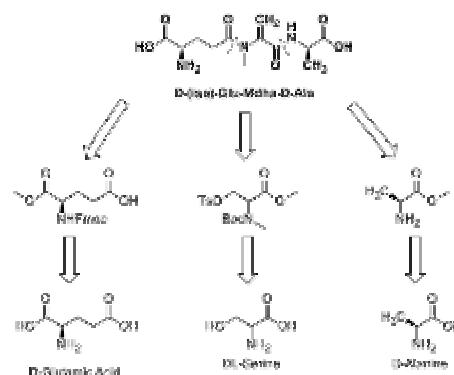
Os principais métodos de detecção das MC são por LC-MS ou por ELISA, onde um anticorpo ligado a uma enzima se agrega a uma molécula específica, mudando suas propriedades espectrofotométricas. O método de imunoensaio (ELISA) tem a vantagem de possuir baixos limites de detecção. Atualmente, esses anticorpos são baseados no aminoácido ADDA (ver fig. 1), pois ele é um aminoácido quase sempre presente nesses peptídeos cíclicos. No entanto, a síntese desse aminoácido não é trivial³.

O objetivo desse trabalho foi a síntese do peptídeo D-Glu(iso)-Mdha-D-Ala (6-7-1 na fig.1), também característico das MC, o qual pode ser utilizado para criação de anticorpos.

Resultados e Discussão

De acordo com os objetivos, partimos dos aminoácidos com configuração dada conforme o esquema. Em uma primeira análise, para a produção do Mdha, realizou-se uma *N*-metilação do ácido acetamidoacrílico. No entanto, na hidrólise posterior foi obtido o produto da adição conjugada à ligação insaturada, além de uma possível adição de Michael em uma posterior etapa de formação das ligações peptídicas⁴. Assim, foi proposto que o resíduo de Mdha fosse obtido a partir da *DL*-serina, como mostra

o Esquema 1. Etapas de proteção e desproteção dos aminoácidos foram necessárias para o prosseguimento da síntese.



Esquema 1. Análise retro-sintética do peptídeo.

Os aminoácidos foram todos protegidos com rendimentos quantitativos. Para a obtenção do éster metílico do ácido glutâmico com o ácido carboxílico em γ , foi necessária uma esterificação de ambas carboxilas com SOCl_2 em metanol e uma posterior hidrólise seletiva com HCl 6N. Para a *N*-metilação do éster metílico da Boc-Serina, foi usado hidreto de sódio e CH_3I , com dimetoxietano como solvente para evitar a β -eliminação da hidroxila. Todos os compostos foram analisados por RMN de ^1H e ^{13}C e por espectrometria de massas.

Conclusões

A síntese proposta, apesar dos vários passos, possui uma maior viabilidade em comparação à síntese do ADDA. Além disso, a formação de outros subprodutos não foi observada. Há a possibilidade de utilização desse peptídeo em futuros testes de imunoensaios.

Agradecimentos

CAPES, CNPq e FAPESP

¹ Svakrek, C. e Smith, D.W.; *J. Environ. Eng. Sci.* **2004**, 3, 155;

² Codd, G. A.; Morrison, L. F. e Metcalf, J. S.; *Toxicology and Applied Pharmacology* **2005**, 203, 264;

³ Humphrey, J. M.; Aggen, J. B.; Chamberlin A. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 11759;

⁴ Humphrey, J. M.; Chamberlin A. R. *Chemical Reviews* **1997**, 97, 2243-2266;